

30 cm

a567883

C/2534

DAVID GALICIA HERBADA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

# TESIS DOCTORAL

RELACIONES FILOGENÉTICAS EN THYMELAEA MILL. Y ENTRE ÉSTE Y OTROS GÉNEROS PRÓXIMOS  
BASADAS EN EL ANÁLISIS DE CARACTERES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES; IMPLICACIONES  
EVOLUTIVAS, BIOGEOGRÁFICAS Y TAXONÓMICAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA MADRID  
REGISTRO GENERAL

Entrada 01 N° 200300006386  
28/03/03 09:39:54

2003

Reg. F.C. 31.576

UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE  
MADRID  
BIBLIOTECA  
CIENCIAS

MEMORIA QUE PRESENTA **DAVID GALICIA HERBADA** PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS: **RELACIONES FILOGENÉTICAS EN *THYMELAEA* MILL. Y ENTRE ÉSTE Y OTROS GÉNEROS PRÓXIMOS BASADAS EN EL ANÁLISIS DE CARACTERES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES; IMPLICACIONES EVOLUTIVAS, BIOGEOGRÁFICAS Y TAXONÓMICAS.** DIRECTORES: JUAN CARLOS MORENO SÁIZ Y HELIOS SAINZ OLLERO. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA. MADRID, 2003.



A MIS PADRES

A LEO, A SU MEMORIA

La razón segrega a través del lenguaje una arquitectura satisfactoria, como la preciosa, rítmica composición de los cuadros renacentistas, y nos planta en el centro.

(JULIO CORTÁZAR. *Rayuela*)

—Y llegue a su hora —concluyó el jefe—. Ayer llegó usted con seis minutos de retraso.

—Sin embargo, estaba aquí nueve minutos antes ...

—dijo Claude.

—Sí —dijo Saknussem—, pero habitualmente llega usted con un cuarto de hora de adelanto.

(BORIS VIAN. *El otoño en Pekín*)

## ÍNDICE

## AGRADECIMIENTOS

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1.	Generalidades	3
1.2.	Delimitación histórica del género <i>Thymelaea</i>	7
1.3.	<i>Thymelaea</i> en las hipótesis filogenéticas previas	10
1.4.	Conocimientos cariológicos	14
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>15</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>19</b>
3.1.	Análisis filogenéticos basados en caracteres morfológicos	21
3.1.1.	Elección de los táxones	21
3.1.2.	Material y caracteres estudiados	21
3.1.3.	Análisis preliminar de los datos	31
3.1.4.	Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia	32
3.2.	Análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares	35
3.2.1.	Elección y procedencia del material vegetal	35
3.2.2.	Región del ADN analizada	35
3.2.3.	Protocolos de laboratorio	40
3.2.3.1.	Extracción y cuantificación del ADN	40
3.2.3.2.	Amplificación del ADN	43
3.2.3.3.	Secuenciación del ADN	45
3.2.4.	Inspección y delimitación de las secuencias	45
3.2.5.	Alineamiento de las secuencias	46
3.2.5.1.	Introducción	46
3.2.5.2.	Procedimiento	48
3.2.6.	Análisis preliminar de las secuencias	49
3.2.7.	Tratamiento de las inserciones/delecciones	50
3.2.7.1.	Introducción	50
3.2.7.2.	Procedimiento	52
3.2.8.	Consideraciones metodológicas sobre los análisis filogenéticos de secuencias	53
3.2.9.	Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia	55
3.2.10.	Evaluación de modelos evolutivos de sustitución	55
3.2.11.	Variación de la tasa de sustitución entre las líneas evolutivas	58
3.2.12.	Saturación de cambios en las secuencias	58
3.2.13.	Reconstrucción filogenética con el método de <i>neighbor-joining</i>	58
3.2.14.	Reconstrucción filogenética con el criterio de evolución mínima	60

3.2.15.	Evaluación estadística de la hipótesis de radiación para la diversificación de <i>Thymelaea</i> y comparación de topologías	60
3.2.16.	Relaciones filogenéticas de <i>Thymelaea</i> con otros géneros próximos	62
<b>3.3.</b>	<b>Análisis del conflicto entre los conjuntos de datos utilizados</b>	<b>63</b>
3.3.1.	Introducción	63
3.3.2.	Índices y tests estadísticos	64
3.3.2.1.	Congruencia entre topologías	64
3.3.2.2.	Homogeneidad de los datos	66
<b>3.4.</b>	<b>Análisis filogenético basado en el combinado de caracteres morfológicos y moleculares</b>	<b>68</b>
<b>3.5.</b>	<b>Asignación de una escala temporal a la diversificación de <i>Thymelaea</i></b>	<b>69</b>
<b>3.6.</b>	<b>Síntesis paleogeográfica y paleoclimática del Mediterráneo desde el Mioceno (Neógeno)</b>	<b>71</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>77</b>
<b>4.1.</b>	<b>Análisis filogenéticos basados en caracteres morfológicos</b>	<b>79</b>
4.1.1.	Análisis preliminar de los datos	79
4.1.2.	Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia	80
<b>4.2.</b>	<b>Análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares</b>	<b>84</b>
4.2.1.	Alineamiento de las secuencias y estructura secundaria del ITS2	84
4.2.2.	Análisis preliminar de las secuencias	84
4.2.3.	Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia	89
4.2.3.1.	Efecto de los tratamientos de las inserciones/delecciones	89
4.2.3.2.	Hipótesis filogenéticas	90
4.2.4.	Evaluación de modelos evolutivos de sustitución	97
4.2.5.	Variación de la tasa de sustitución entre las líneas evolutivas	97
4.2.6.	Saturación de cambios en las secuencias	101
4.2.7.	Reconstrucción filogenética con el método de <i>neighbor-joining</i>	102
4.2.8.	Reconstrucción filogenética con el criterio de evolución mínima	107
4.2.9.	Evaluación estadística de la hipótesis de radiación para la diversificación de <i>Thymelaea</i> y comparación de topologías	109
4.2.10.	Relaciones filogenéticas de <i>Thymelaea</i> con otros géneros próximos	110
<b>4.3.</b>	<b>Análisis del conflicto entre los conjuntos de datos utilizados</b>	<b>117</b>
4.3.1.	Índices y tests estadísticos	117
4.3.1.1.	Congruencia entre topologías	117
4.3.1.2.	Homogeneidad de los datos	118
<b>4.4.</b>	<b>Análisis filogenético basado en el combinado de caracteres morfológicos y moleculares</b>	<b>120</b>
<b>4.5.</b>	<b>Asignación de una escala temporal a la diversificación de <i>Thymelaea</i></b>	<b>122</b>

<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>125</b>
5.1.	Causas del conflicto entre las hipótesis filogenéticas	127
5.2.	Anomalías filogenéticas que afectan a <i>T. granatensis</i> , <i>T. pubescens</i> y <i>T. sanamunda</i>	134
5.3.	Resolución de la filogenia y cladogénesis en <i>Thymelaea</i>	140
5.4.	El grupo hermano de <i>Thymelaea</i> y las relaciones filogenéticas entre otros géneros próximos	144
5.5.	La mejor estimación posible de las relaciones filogenéticas en <i>Thymelaea</i>	146
5.6.	Escala temporal de la filogenia y biogeografía histórica de <i>Thymelaea</i>	149
5.7.	Implicaciones taxonómicas	160
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>167</b>
<b>7.</b>	<b>APÉNDICES</b>	<b>173</b>
7.1.	Material utilizado en los análisis morfológicos	175
7.2.	Procedencia de las secuencias de ADN	185
7.3.	Matriz de secuencias alineadas	189
7.4.	Divergencia entre las secuencias analizadas	199
7.5.	Test de Kumar & Gadagkar	207
7.6.	Test de Shimodaira-Hasegawa	211
7.7.	Test de Tajima	217
<b>8.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>229</b>

## **AGRADECIMIENTOS**

Sinceros, imposibles, efusivos,  
rácanos, concretos, desmedidos,  
de compromiso, plenos, merecidos,  
formales, pero todos bien debidos.

Justos, especiales, insidiosos,  
de rigor, discutibles, decididos,  
deseados, con pañuelo, remilgados,  
perdón por las ausencias, son olvidos.

Por acodarte conmigo,  
por subirte a la moto,  
por escuchar lo que digo,  
por aproximar lo remoto.

Por los cadáveres vestidos,  
por el dato y el buen trato,  
por los *emilios* respondidos,  
por el rato sin maltrato.

Por tan propios improprios,  
por el apoyo sin poyo,  
por antídoto de climaterios,  
por el aliento en el escollo.

Por el placaje al hastío,  
por el brindis sin fiesta,  
por hacer fresco el estío,  
por mantenérmela enhiesta.

Por tan aséptico mecenazgo,  
por delicadeza bruta,  
por descuidar el maestrazgo,  
por tan infame batuta.

Por pasar días sin techo,  
por drenar parte del fango,  
por echar pecho a lo hecho,  
por pegarte en este tango.

Por las cubiertas gastadas,  
por el aceite perdido,  
por las cachas magulladas,  
por el riñón aterido.

Por liquidar desprecios,  
por saldar apariencias,  
por regalar aprecio,  
por rebajar impaciencias.



Por lo que dice Rosendo,  
por escapar de la doma,  
por oírlo sin fonendo,  
por volverte hacia Sodoma.

Por querer si debías,  
por no saber ir de gorra,  
por no forzar letanías,  
por distinto arroz que zorra.

Por los tesoros del moro,  
por ser bien nacido,  
por las verónicas al toro,  
por lo aprendido y desprendido.

Por juntarnos en Oriente,  
por pan, vino y acomodo,  
por digna contracorriente,  
...  
por poco, mucho, nada o todo.

Rubim Almeida, Sonia Arce, Gerard Aymonin, Sara Barceló, Olga Bellido, Elena Bermejo, Emilio Blanco, Salvador Bonet (Totó), Juancho Calleja, Javier Cervera, Consuelo Cebolla, Mark W. Chase, Cristina Clamagirand, Marga Costa, Felipe Domínguez, Joaquín Dopazo, Milton Fernández, Carmen Fenoll, Catalina Folch, Pere Fraga, Fátima Franco, Alain Fridlender, Javier Fuertes, Fernando Galicia, Jacques Gamisans, Mercedes García Antón, Teresa Gil, Pilar Gómez, Fernando Gómez Manzaneque, Fernando González Candelas, Pilar Gurrea, Gemma Hernández, Juan Herranz, Tahiri Hikmat, Jorge Íñiguez, José María Iriondo, Adel Jalili, Yolanda Jiménez, Paco Lara, Laura, Catherine Levassor, Carmen López, María Antonia López (Marian), José Ángel López Rodríguez (Coté), Javier Maldonado, Juan Malo, Pepe Martín Cano, Juan Pedro Martín, Félix Martínez Atienza, María Mayol, Merche (Chuchurú), Anna Messer, Mati Morales, Ramón Morales, Conchi Moreno, Leoncio Moreno (Leo), Juan Carlos Moreno, Marga Moreno, Carlos Morla, Gonzalo Nieto, David Orueta, Manuel Pardo, Mamen Peña, José María Postigo, Isabel Puentes, Pedro Regato, María Antonia Rivas, Rafael Rivilla, Pep Toni Rosselló, Helios Sainz, Llorenç Sáez, Rut Sánchez, Kit Tan, Helena Torres, Virginia Valcárcel, Antonio G. Villaraco, Ziheng Yang.

Albert-Ludwigs Universität, Friburgo, Alemania (Erwin Bergmeier), Botanical Museum, Lund, Suecia (Susanna Riebel), British Museum of Natural History, Londres, Inglaterra (Mamen Peña), CERBIV, Universitat de Barcelona (Toni Sánchez Cuixart), Conservatoire et Jardin Botaniques, Ginebra, Suiza (Fernand Jacquemoud), Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Universidad Politécnica de Madrid (Carlos Morla, Fernando Gómez Manzaneque), Gazi Üniversitesi, Ankara, Turquía (Mecit Vural), Hemeroteca, Fac. de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid (Elena Aguirre), Institut Scientifique, Rabat-Agdal, Marruecos (Aïcha Ouyahya), Institut Botànic de Barcelona (Ángel M. Romo), Institut des Sciences de la Nature, Argel, Argelia (Amar Bouzenoune), Instituto de Investigación de los Bosques y Espacios Naturales, Teherán, Irán (Adel Jalili), Jardim Botânico da Madeira, Funchal, Portugal, Jardín Botánico de Madrid (Ana del Valle), Ministerio de Agricultura, Recursos Naturales y Medio Ambiente, Nicosía, Chipre (Kyriakos Kyriakou), Muséum National d'Histoire Naturelle, París, Francia (Philippe Morat, Gerard Aymonin), Royal Botanic Gardens, Edinburgh, Escocia (Helen Hoy), Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, Inglaterra (Brian Stannard, Mark W. Chase), Servicio Interdepartamental de Apoyo a la Investigación, Universidad Autónoma de Madrid (Conchi Moreno, Antonio Nuñez), Centro Nacional de Biotecnología, Madrid (Antonio Varas), Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid (Alfonso Cortés, Félix Martínez Atienza, Marga Costa), Universidad de Granada (Laura Baena, Carmen Quesada).

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Generalidades

*Thymelaea* Mill. comprende alrededor de treinta y una especies, la mayor parte perennes y de porte arbustivo o caméfitico, aunque también algunas anuales y herbáceas.

Se encuentra distribuido en torno al Mediterráneo, si bien la anual *T. passerina* amplía considerablemente el área total del género, al alcanzar Polonia por el Norte (WEBB & FERGUSON, 1968) y China y Cachemira por el Este (BROWICZ, 1979) [fig. 1.1]. Aparte de esta especie son pocas las que rebasan de manera destacada la Región Mediterránea hacia las regiones Eurosiberiana, Saharo-Síndica e Irano-Turánica. A este perfil esencialmente circunmediterráneo hay que añadir, como singularidad corológica sobresaliente, la alta concentración de táxones (90 %) y la elevada endemismidad (85 %) que se da en el extremo occidental del área mediterránea (GALICIA HERBADA, 1995). *T. passerina* crece asilvestrada en Estados Unidos y Australia.

En consonancia con la distribución anterior y excluyendo, si acaso, a la eurícola y más tolerante *T. passerina*, todas sus especies ocupan preferentemente territorios sometidos a un régimen climático mediterráneo, casi siempre de ombrotipo seco (P: 350-600 mm). Algunos táxones han conseguido explotar ambientes de alta montaña, en los que el clima

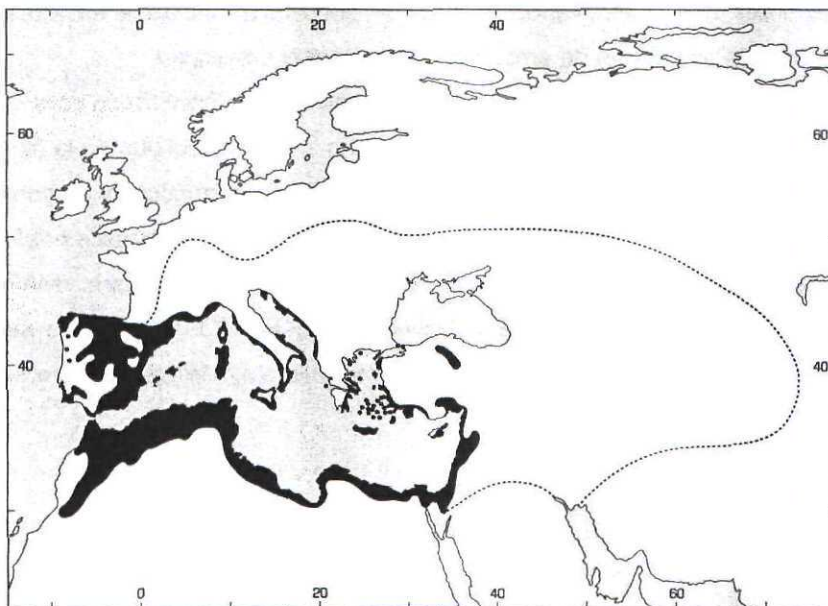


Fig. 1.1. Área de distribución del género *Thymelaea*. La línea discontinua representa el límite de distribución de las especies anuales, marcado al Norte y al Este por *T. passerina* y al Sur por *T. mesopotamica* y *T. gussonei*.



se torna más contrastado, o zonas de influencia oceánica, pero incluso en estos lugares se sitúan allí donde la topografía, el sustrato y la orientación mantienen unas condiciones extremadas de insolación y sequedad, ya sea ésta ambiental o meramente fisiológica. Le van bien los suelos pobres y erosionados, de matriz más o menos suelta, arcillosa o margosa, y de reacción básica o ácida. Las formaciones vegetales en las que se integra son principalmente arbustivas, dominadas por carnéfitos o nanofanerófitos: desde brezales atlánticos a matorrales semidesérticos; pero también lo hace en pinares, encinares, alcornocales y quejigares abiertos, en pastizales orófilos, en espartales, en comunidades rupícolas y, en el caso de las especies anuales, en cultivos cerealistas.

Pocas veces (*T. hirsuta*, *T. tartonraira*, *T. tinctoria*, *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum*, *T. lythroides*, *T. microphylla*, *T. virgata*) destacan como especies frecuentes o dominantes en las comunidades de que forman parte y sus poblaciones son, por lo general, reducidas. Este hecho, unido a su habitual carácter endémico y a su propia biología, las convierte en especies raras, ocasionalmente en un estado de conservación nada boyante. El caso más extremo lo constituye *T. sempervirens* (fig. 1.2), endemismo del sur de Túnez del que no se conoce material de herbario posterior a las colectas que sirvieron para describir la especie y que podría haber desaparecido considerando la búsqueda infructuosa que el profesor P.H. Davis efectuó en los años setenta (v. TAN, 1980a). Otro ejemplo que recuerda al anterior es el de *T. gattefossei*, buscada sin éxito en la localidad típica con motivo de este trabajo y sin citas o colectas recientes conocidas. Varios táxones se encuentran incluidos en listas rojas y de protección de ámbito regional, estatal o europeo.

En numerosos casos se ha comprobado su carácter tóxico para el hombre y otros animales. Dicha toxicidad ha sido aprovechada en la farmacopea tradicional aplicándolas a dosis bajas como eméticos y purgantes (BORRIS & *al.*, 1988). Como curiosidad en lo tocante a los usos medicinales se transcribe una nota encontrada en el herbario MAF acompañando a un pliego de *T. lanuginosa* (MAF63008), en la que se informa de su utilización a modo de remedio local (¿Málaga?) contra la tuberculosis:

"Esta planta llamada vulgarmente Salao y cuyo nombre científico es *passarina caliscyna*? se produce en los terrenos pedregosos de Andalucía con abundancia.

La jente de campo le atribuye grandes propiedades para curar la tuber-

Fig. 1.2. Ejemplar tipo de *Thymelaea sempervirens*, endemismo tunecino que puede haberse extinguido.



culosis:

Para ello se necesita sostener con la planta este dialogo que mejor y mas propiamente podriamos llamar monologo desde el momento que el enfermo á de contestarse él mismo á las palabras que dirige á la planta. Estas son las siguientes:

—Buenos días Sr. Salao ¿como esta V.?

—Bien y V.

—Pues yo me encuentro algo mal del pecho.

—Vaya me alegrara que V se alivie.

—Muchas gracias, que V. siga bien.

Esto se hace cojiendo uno de los tallos terminales de la planta, despues se repite lo mismo hasta 3 veces cada vez en un tallo distinto.

Esta operación se hace durante 3 días seguidos teniendo cuidado de coger siempre los mismos tallos, pues si se equivoca ya no produce los beneficios resultados que de él se espera.

Después de echo el saludo ya indicado (que tiene que ser antes de la salida del sol) se marchan á su casa sin volver la cara atrás por nada del mundo (ni aunque se le caiga la petaca = palabras textuales del pastor de quien estan tomados estos datos). En casa tienen que estar antes de la salida del sol.

Si no se hace todo, con las condiciones indicadas no dara ningun resultado el remedio.

A los 3 días justos de todas estas operaciones le sale al enfermo una gran piojera y el enfermo esta sino curado por completo por lo menos con un verdadero alivio.

Eduardo Cobos  
Malaga 15-8-1901"

Aunque no existen estudios particulares para *Thymelaea*, con otros géneros próximos (*Daphne* L., *Wikstroemia* Endl., *Stellera* L.) se han llevado a cabo análisis clínicos que destacan la actividad anticancerígena de alguno de sus componentes (p. ej. KUPCHAN & BAXTER, 1975; TORRANCE & al., 1979; XU & al., 2001). Otras aplicaciones, aparte de las medicinales, incluyen la fabricación de cuerdas a partir de los tenaces tallos de *T. hirsuta* y de *T. tartonraira* (RIVERA NÚÑEZ & OBÓN DE CASTRO, 1991; BAUMANN, 1993); de escobas (RIVERA NÚÑEZ & OBÓN DE CASTRO, 1991), de pulpa celulósica para papel (EL-GHONEMY & al., 1977; SCHMIDT & STAVISKY, 1983) y como combustible y fijador de suelos (SHALTOUT & AYYAD, 1988) en el caso de *T. hirsuta*, y la obtención de tinte amarillo de *T. tinctoria* (QUER, 1784).



## 1.2.

### Delimitación histórica del género *Thymelaea*

La delimitación del género desde que BAUHIN (1623) hizo una primera agrupación bajo el nombre de *Thymelaea* ha ido modificándose a la vez que lo ha hecho el propio concepto de esta categoría taxonómica y que ha sucedido el descubrimiento de nuevas especies, la adquisición de mayores conocimientos y la acometida de nuevas revisiones. Así, TOURNEFORT (1700, 1703), MILLER (1754) y ADANSON (1763) incluyeron en *Thymelaea* especies encajadas después en *Daphne*, *Gnidia* L. y *Passerina* L., LINNEO (1753) repartió las especies que describió en los géneros *Stellera*, *Passerina* y *Daphne*, y otros autores, como FASANO (1788), NECKER (1791), RAFINESQUE (1840), MEYER (1843) y GERBER (1900), definieron géneros nuevos [*Ligia* Fasano, *Sanamunda* Necker, *Tartonia* Rafin., *Gastrilia* Rafin., *Pausia* Rafin., *Chlamydanthus* C.A. Meyer, *Piptochlamys* C.A. Meyer y *Giardia* Gerber] para agrupar ciertas especies, justificados en cada caso por caracteres más o menos sobresalientes (hábito, forma de la flor, persistencia del hipanto).

ENDLICHER (1848), probablemente más apoyado en una buena intuición que en los propios caracteres que manejó para hacer su clasificación, tuvo una idea de lo que debía agruparse bajo este género que apenas se modificaría ya después, si exceptuamos su consideración de *Ligia* [*Lygia*] Fasano como género independiente (tab. 1.1). Este último lo sustentó no en el carácter anual de las especies que contenía, sino en la tenencia de estilo terminal y pericarpo membranáceo frente a nucantáceo [*nucamentaceum*].

A partir de la revisión de MEISSNER (1857), publicada en el "Prodromus" de De Candolle, las especies conocidas en cada momento que hoy en día están incluidas en *Thymelaea* se han mantenido ininterrumpidamente dentro de este único género. Las sucesivas clasificaciones mantendrán, en esencia, la jerarquía expuesta en esta obra, limitándose a agrupar los nuevos táxones que se van descubriendo en función de interpretaciones más o menos afortunadas (BENTHAM & HOOKER, 1883; GILG, 1894; BRECHER, 1941; TAN, 1980a).

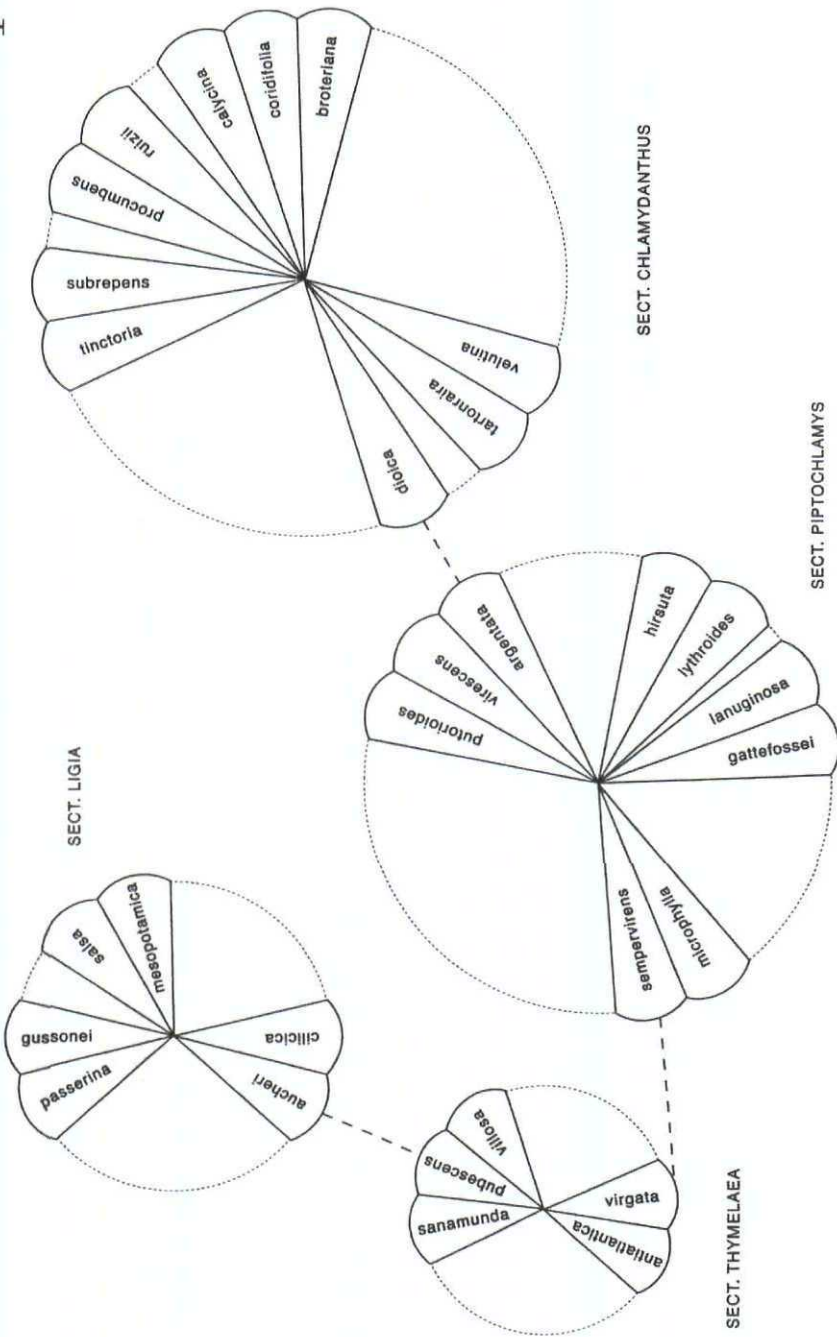
El tratamiento taxonómico más profundo hasta la fecha se debe a TAN (1980a). En él se define *Thymelaea* según un conjunto de caracteres que lo distinguen de *Daphne*, género con el que la autora reconoce afinidades más estrechas. Estos caracteres son el perianto persistente (rara-



1.3.  
**Thymelaea en las hipótesis filogenéticas previas**

Nunca antes se ha llevado a cabo un análisis filogenético para los táxones incluidos en *Thymelaea*. De manera más o menos explícita, sólo

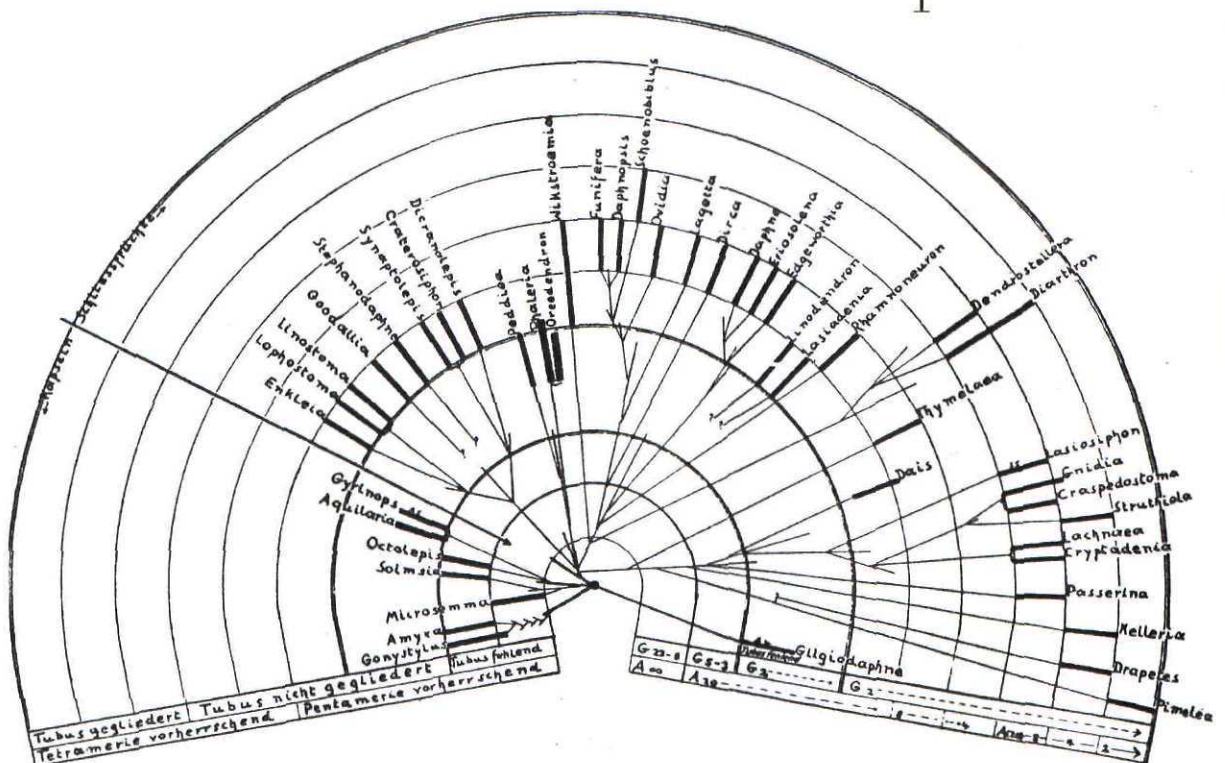
Fig. 1.3. Relaciones en *Thymelaea* inferidas por TAN (1980a; fig. 3). Los círculos denotan el tamaño relativo de cada sección (número de especies). Las especies relacionadas más estrechamente aparecen contiguas. Las líneas discontinuas indican la afinidad entre las secciones.



se pueden encontrar breves referencias a las relaciones de parentesco en algunas de las revisiones taxonómicas previas, basadas en una metodología tradicional. TAN (1980a) presenta, gráficamente, una propuesta informal de relaciones filogenéticas inferidas a partir de su estudio taxonómico (fig. 1.3) y hace, ocasionalmente, algún comentario sobre las afinidades morfológicas (¿evolutivas?) de los táxones. Así por ejemplo, considera a la subsección *Coridifoliae* K. Tan un grupo bien definido y natural.

Las relaciones de *Thymelaea* con otros géneros han sido tratadas por DOMKE (1934), TAN (1980a) y VAN DER BANK & *al.* (2002). Domke presenta una afinada hipótesis filogenética para la familia (fig. 1.4), considerando los conocimientos de entonces y el material al que pudo tener acceso, pero llama la atención la atribución poco ajustada o errónea de algunos caracteres en los que basa su interpretación, por ejemplo, el estilo generalmente terminal a *Thymelaea* y el tubo claramente articulado y el pericarpo siempre seco a la subtribu *Daphninae* Endl. (*Daphne*, *Eriosolena* Blume, *Edgeworthia* Meisn.). *Thymelaea* es situado por Domke en la tribu *Gnidieae* Meisn., lo que es justificado por la posesión de tubo no articulado y por las similitudes que presenta la formación y estructura del fruto y la semilla con el resto de los táxones incluidos en dicha

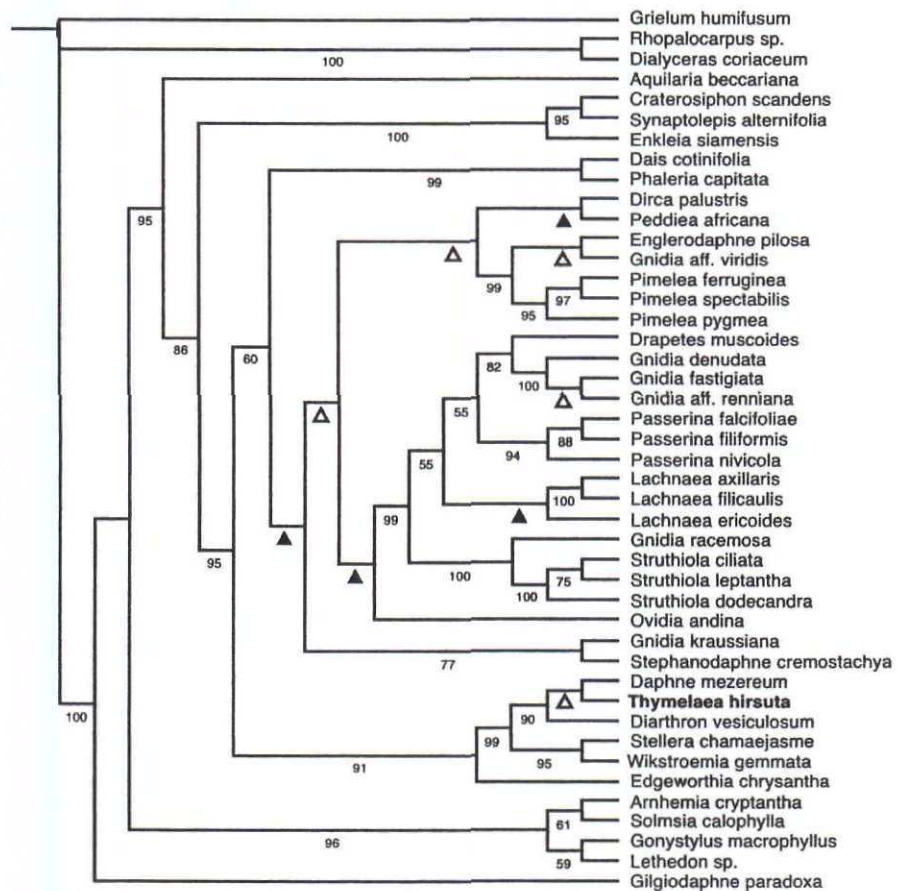
Fig. 1.4. Esquema filogenético propuesto por DOMKE (1934; pág. 100) para la familia *Thymelaeaceae*.



tribu. No obstante, expresa sus dudas en cuanto a la conveniencia de situarlo en una tribu propia (debido a la posición generalmente terminal del estilo y el tubo nunca articulado) y afirma que probablemente se separó de la rama de las *Gnidieae* bastante pronto. Incluso, se plantea la posibilidad de incorporarle a la tribu *Daphneae* Meisn. si no fuera porque sus especies poseen en algunos casos estilo lateral. De igual modo, el estilo siempre terminal de las *Dendrostellerinae* elimina, según el autor, toda posibilidad de relacionar esta subtribu con la tribu de las *Gnidieae*, en vez de con las *Daphneae*. Considera asimismo injustificado mantener *Stellera* como género independiente, incorporándolo a *Wikstroemia*.

TAN (1980a), en su intento de ofrecer una delimitación precisa de *Thymelaea*, repasa las afinidades morfológicas de éste con los géneros que considera más próximos: *Daphne*, *Wikstroemia* y *Restella*, y con *Stellera* y *Diarthron*. Concluye finalmente que *Daphne* es el género más estrechamente relacionado con *Thymelaea*, además de mantener la separación de *Stellera* y *Wikstroemia*, al contrario que DOMKE (1932,

Fig. 1.5. Hipótesis filogenética para *Thymelaeaceae* obtenida por VAN DER BANK Et al. (2002; fig. 3, simplificada) mediante el análisis con parsimonia y pesaje sucesivo de los caracteres que forman el combinado de secuencias del gen *rbcL* y la región *trnL-F* del ADN cloroplástico. Los números indican valores de *bootstrap*  $\geq 50$  %. Los triángulos negros señalan grupos ausentes en el árbol de consenso estricto resultante del análisis con igual peso para todos los caracteres. Los triángulos huecos señalan grupos ausentes en cualquiera de los árboles de consenso estricto obtenidos bajo el criterio de parsimonia.





1934), y de reconocer, al igual que éste, la afinidad entre *Restella* y *Wikstroemia*.

VAN DER BANK & *al.* (2002) llevan a cabo un análisis cladístico de la familia utilizando secuencias de ADN (*rbcL* y *trnL-F*). La hipótesis filogenética presentada, aunque incompleta por estar centrada en los géneros africanos, incluye un representante de *Thymelaea* (*T. hirsuta*) y de otros géneros considerados próximos en los estudios anteriores (*Daphne*, *Wikstroemia*, *Stellera* y *Diarthron*). La mayor proximidad de *Daphne* y *Thymelaea* es apoyada por la secuencia del gen *rbcL*, aunque sin la presencia de *Diarthron*. Con las secuencias *trnL-F* y este último taxon, las relaciones entre los tres géneros no son resueltas, como tampoco lo son tras el análisis del combinado formado por ambos tipos de secuencias; no obstante, permanecen en el mismo clado, el cual se revela hermano del que constituyen *Stellera* y *Wikstroemia* (fig. 1.5).

## 1.4. Conocimiento cariológico

El número base se mantiene en este género, al igual que en toda la familia, en  $n=9$ . Aunque se han efectuado pocos recuentos cromosómicos, la diversidad a este respecto parece muy baja, característica también común al resto de la familia. Todos los táxones para los que se conoce su nivel de ploidía son diploides ( $2n=18$ ), exceptuando *Thymelaea hirsuta*, tetraploide ( $2n=36$ , DENELLE & PUECH, 1985; DIOSDADO & al., 1993; MÉDAIL & ABOUCAYA, 1993), y el híbrido entre esta especie y *T. tartonraira*, triploide (*T. x conradiae*,  $2n=27$ , MÉDAIL & ABOUCAYA, 1993). El resto de los números cromosómicos aparecidos en la bibliografía son los siguientes: *T. microphylla*,  $2n=18$  (REESE, 1957); *T. tartonraira* subsp. *thomasi*,  $2n=18$  (CONTANDRIOPOULOS, 1964); *T. passerina*,  $2n=18$  (KUZMANOV, 1973; Feráková in MAJOVSKY, 1974; KUZMANOV & al., 1992; JAVURKOVÁ-JAROLÍMOVÁ, 1992; CESMEDZIEV, 1997); *T. velutina*,  $2n=18$  (CARDONA, 1977); *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum*,  $n=9$  (GONZÁLEZ & ELENA, 1985); *T. tartonraira*,  $n=9$  (DÍAZ LIFANTE, 1991),  $2n=18$  (MÉDAIL & ABOUCAYA, 1993) y *T. bulgarica*,  $2n=18$  (CESMEDZIEV, 1997).

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

El conocimiento existente sobre la historia evolutiva de *Thymelaea* se puede considerar, como mucho, incipiente. Con respecto a las relaciones filogenéticas no existe ningún intento mínimamente riguroso de reconstrucción, sino sólo aquello que puede desprenderse de las propuestas taxonómicas previas basadas en una metodología tradicional, cuya interpretación en este sentido resulta, además, poco apropiada. Por otro lado, son muy escasos los estudios llevados a cabo con representantes de este género que aborden de manera experimental algún aspecto de su evolución o de su ecología, siendo los más destacados aquellos que han tratado de explicar la compleja expresión sexual de *T. hirsuta* (p. ej. DOMMÉE & *al.*, 1995; EL-KEBLAWY & *al.*, 1995; FREEMAN & *al.*, 1997; EL-KEBLAWY & FREEMAN, 1999).

Los logros alcanzados últimamente en la lógica del proceso de reconstrucción filogenética, los avances metodológicos y tecnológicos y la disponibilidad de datos moleculares permiten que hoy día se pueda intentar resolver la filogenia de cualquier grupo taxonómico con mayor confianza y objetividad. Un intento de este tipo es el que se presenta en este trabajo con *Thymelaea*. La estimación de las relaciones filogenéticas no sólo se considera un aporte en sí mismo al conocimiento de la historia evolutiva de este género, sino también un paso fundamental hacia la comprensión de las trayectorias evolutivas seguidas por los caracteres morfológicos, del origen y diversificación del género, del patrón de distribución de los táxones y hacia una clasificación que refleje más adecuadamente las afinidades naturales de los táxones. Si bien *Thymelaea* no presenta demasiadas complicaciones para la individualización morfológica de sus especies, sus agrupamientos están basados a menudo en caracteres poco consistentes. Incluso la definición del propio género encuentra escasos apoyos en la morfología. En este sentido, los caracteres moleculares pueden aportar información valiosa, teniendo además en cuenta que los datos citológicos parecen resultar, en este caso, muy poco informativos.

Entre las particularidades que hacen a *Thymelaea* especialmente interesante se cuentan la complejidad de su expresión sexual (presenta múltiples combinaciones de sexos, incluso dentro de los propios individuos y a lo largo del tiempo), la coexistencia dentro del género de táxones anuales y perennes, su carácter netamente mediterráneo y su elevada endemidad. Abordar cualquiera de estos aspectos desde una óptica evolutiva requiere conocer antes las relaciones filogenéticas. A par-

2

tir de aquí es razonable esperar que *Thymelaea* pueda contribuir al avance en cuestiones tan debatidas como la evolución de la dioecia o el origen y diversificación de la flora mediterránea.

Atendiendo a las anteriores consideraciones, los objetivos principales del trabajo que se presenta se pueden individualizar como sigue:

- Ofrecer una estimación explícita de las relaciones filogenéticas en *Thymelaea* basada en caracteres morfológicos y moleculares.
- Determinar la utilidad para resolver las relaciones filogenéticas en *Thymelaea* de los caracteres morfológicos y de las secuencias de ADN correspondientes a la región de los ITS del ADN ribosómico nuclear y a la región trnL-F del ADN cloroplástico.
- Comprobar el carácter monofilético de *Thymelaea* y esclarecer las relaciones filogenéticas entre éste y otros géneros próximos [*Daphne*, *Diarthron* (incl. *Dendrostellera* y *Stelleropsis*), *Wikstroemia* (incl. *Restella*) y *Stellera*].
- Aproximar una dimensión temporal a la filogenia que mejore el conocimiento sobre el origen y la diversificación de *Thymelaea*.
- Aportar, desde una perspectiva filogenética, una aproximación a la biogeografía histórica de *Thymelaea*.
- Considerar la coherencia de las propuestas taxonómicas más recientes con la filogenia estimada.



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

### 3.1.

## Análisis filogenéticos basados en caracteres morfológicos

### 3.1.1.

#### Elección de los táxones

La taxonomía utilizada de partida para el análisis filogenético de *Thymelaea* es la publicada por K. TAN en 1980 (tab. 1.1). Se han incluido en el presente análisis todas las especies mencionadas en esta publicación, junto con *T. granatensis*, reconocida aquí como especie independiente

*Daphne* ha sido propuesto como género más estrechamente emparentado con *Thymelaea* (TAN, 1980a; VAN DER BANK & *al.*, 2002); éste y otros géneros próximos: *Wikstroemia*, (incl. *Restella*), *Diarthron* (*sensu* TAN, 1982) y *Stellera* han sido utilizados como grupo externo.

### 3.1.2.

#### Material y caracteres estudiados

Se han utilizado 22 caracteres para los análisis filogenéticos, cuyos estados fueron determinados haciendo uso de información publicada, de material de herbario y de observaciones de campo. Las siguientes referencias bibliográficas sirvieron a este propósito: SALEH & SARG, 1965; TAN, 1980a, 1980b, 1982; NIETO, 1997; PEDROL, 1997. El material estudiado procede de colectas expresas para el presente trabajo (201 pliegos y 70 lotes de semillas) y de las siguientes instituciones: BC, BCC, BCF, BM, E, EMMA, G, GAZI, GDA, GDAC, K, LD, MA, MACB, P, TARI (el desarrollo de estos códigos puede verse en el apéndice 7.1). La lista de pliegos y lotes de semillas (colectas propias de este material sin pliego de referencia) de los que se extrajo la información morfológica, junto con los caracteres analizados en cada uno de ellos, se encuentra en el apéndice señalado.

Inicialmente se consideró un número de caracteres mayor, pero se descartaron aquellos que presentaron un gran polimorfismo dentro de

las especies, los que tuvieron reducida su fiabilidad debido a dificultades en su codificación, los que mostraron una elevada correlación con otros caracteres considerados y aquellos que no resultaron informativos desde un punto de vista cladístico. Entre los caracteres desechados se incluyen la presencia de clorénquima en los tallos maduros, las cicatrices foliares, el indumento de los tallos, las hojas, las brácteas y el pericarpo, el número y la forma de los sépalos, la forma y el tamaño de la semilla, el tamaño del estrofiolo, la presencia de carúncula, el grado de curvatura del pico de la semilla y la expresión sexual.

Los caracteres relativos al fruto y la semilla no han podido ser estudiados en *T. gattefousei* y en *T. sempervirens* debido a que dichos órganos son desconocidos para ambas especies.

A continuación se detallan los caracteres finalmente utilizados, acompañados de las observaciones necesarias cuando éstos no son suficientemente autoexplicativos o se estimó apropiado aportar información complementaria.

1. Planta herbácea (0); planta sufruticosa (1); planta fruticosa o fruticulosa (2) (fig. 3.1)

Más que al porte o al aspecto exterior de la planta, con este carácter se pretende hacer referencia a la consistencia de los tallos y ramas que lo componen (cf. FONT QUER, 1985). Así, herbáceo significa que todos los tallos y ramas se encuentran sin lignificar, sufruticosa que los tallos

Fig. 3.1. Distintos tipos de hábito de crecimiento reconocidos en *Thymelaea*. Izquierda: herbáceo (*T. passerina*); centro: sufruticosa (*T. pubescens*); derecha: fruticosa (*T. tartonraira*).



sólo están lignificados en la base o parte inferior y fruticoso o fruticuloso que todos los tallos y ramas se encuentran lignificados (excepto los producidos en el último periodo vegetativo). Teniendo esto en cuenta, *T. dioica*, *T. subrepens*, *T. ruizii*, *T. coridifolia*, *T. procumbens* y *T. broteriana*, consideradas sufruticosas por PEDROL (1997), son tratadas como fruticosas en el presente análisis.

2. Estomas ausentes en tallos jóvenes (0); estomas presentes en tallos jóvenes (1)

SALEH & SARG (1965) señalan su presencia en *T. hirsuta* (estomas de tipo anomocítico), mientras que TAN (1980a) mantiene que no existen en esta especie. Para el presente estudio se ha comprobado su existencia en individuos pertenecientes a dos poblaciones distintas y se ha decidido finalmente que la posesión de estomas es el estado que corresponde a dicha especie.

3. Floema secundario sin fibras internas (0); floema secundario con fibras internas (1)

La visualización de este carácter y el siguiente se hizo al microscopio óptico sobre cortes de tallos de 30 µm realizados con un microtomo de congelación y teñidos con safranina-verde alcian (JOEL, 1983). Este tipo de tinción diferencial permite distinguir con facilidad las fibras (teñidas de rojo) del resto de las células del floema secundario (teñidas de verde).

4. Radios del floema secundario no dilatados (0); Radios del floema secundario dilatados (1)

5. Hojas sésiles o subsésiles (0); hojas pecioladas (1)

Se consideraron hojas sésiles o subsésiles aquellas en las que no se pudo distinguir un peciolo o éste era dudosamente apreciable. Peciolas se consideraron las hojas con un peciolo perfectamente distinguible y siempre mayor de 0,5 mm de longitud.

6. Hojas epiestomáticas (0); hojas hipostomáticas (1); hojas anfiestomáticas (2)

El polimorfismo en *Thymelaea coridifolia* se debe a la existencia de poblaciones pertenecientes a la subespecie *dendrobryum* formadas por



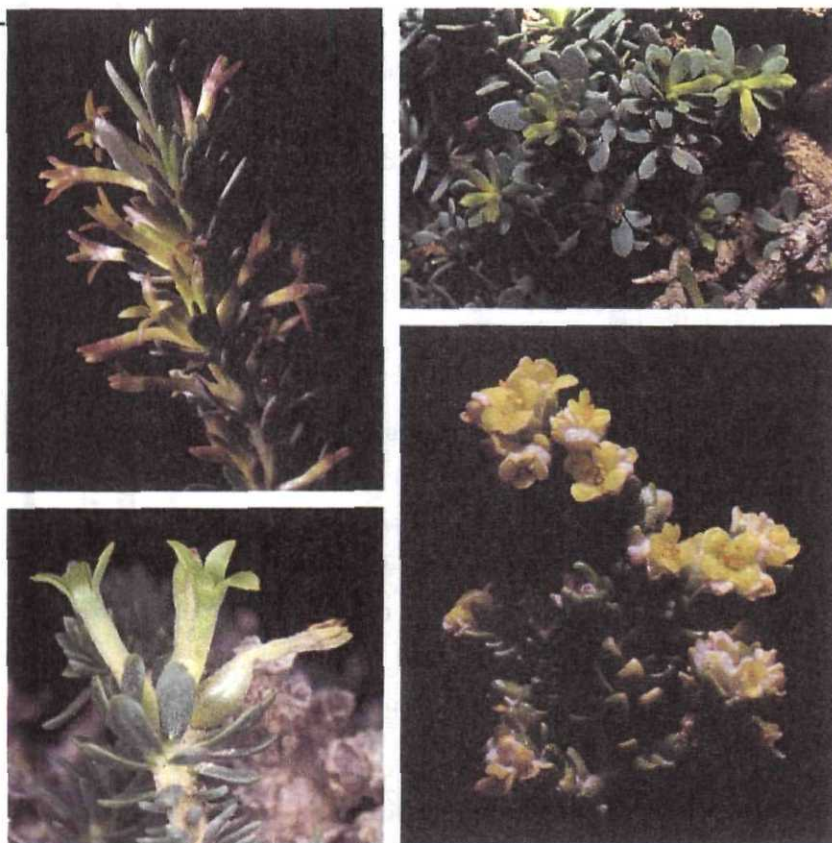
individuos con hojas anfiestomáticas. Las poblaciones estudiadas que presentan este estado del carácter son las de Serra da Estrela (Beira Alta, Portugal), Sierra Segundera (Zamora) y Puerto de San Isidro (León-Asturias). En estos casos los estomas de la cara abaxial se disponen formando dos bandas paralelas al nervio central.

7. Esclereidas ausentes (0); esclereidas presentes (1)

8. Paredes anticlinales de la epidermis foliar rectas o muy levemente onduladas en haz y envés (0); paredes anticlinales de la epidermis foliar claramente onduladas en el haz, rectas o muy levemente onduladas en el envés (1); paredes anticlinales de la epidermis foliar rectas o muy levemente onduladas en el haz, claramente onduladas en el envés (2); paredes anticlinales de la epidermis foliar claramente onduladas en haz y envés (3)

9. Brácteas ausentes (0); brácteas presentes en número de dos (1);

Fig. 3.2. Inflorescencias terminales y ebracteadas en *T. argentata*, inflorescencias en el extremo de braquiblastos, (arriba izquierda); *T. putorioides* (arriba derecha); *T. virescens* (abajo izquierda) y *T. hirsuta* (abajo derecha).



brácteas presentes en número superior a dos (2)

Resulta problemático aplicar este carácter a aquellas especies que tienen inflorescencias terminales y, además, las hojas más próximas a la inflorescencia no se encuentran diferenciadas del resto: *T. hirsuta* (fig. 3.2), *T. lythroides*, *T. lanuginosa*, *T. gattefossei*, *T. argentata* (fig. 3.2), *T. villosa*, *T. granatensis* (fig. 3.4), *T. virescens* (fig. 3.2), *T. putorioides* (fig. 3.2), *T. microphylla*. Esta dificultad queda puesta de manifiesto al observar que distintos autores (TAN, 1980a; PEDROL, 1997) consideran las inflorescencias de dichas especies ebracteadas y bracteadas respectivamente. El problema parece que surge al considerar como brácteas sólo aquellos órganos foliáceos inmediatos a la inflorescencia y distintos de las hojas normales (FONT QUER, 1985) o también los que, aun siendo indistinguibles de las hojas, se encuentran axilando una inflorescencia (BELL,

Fig. 3.3. Inflorescencias axilares y bracteadas en *T. coridifolia* (arriba izquierda), *T. subrepens* (arriba centro), *T. ruizii* (arriba derecha), *T. broteriana* (abajo izquierda) y *T. tartonraira* (abajo derecha). Inflorescencias axilares y ebracteadas en *T. sanamunda* (abajo centro).

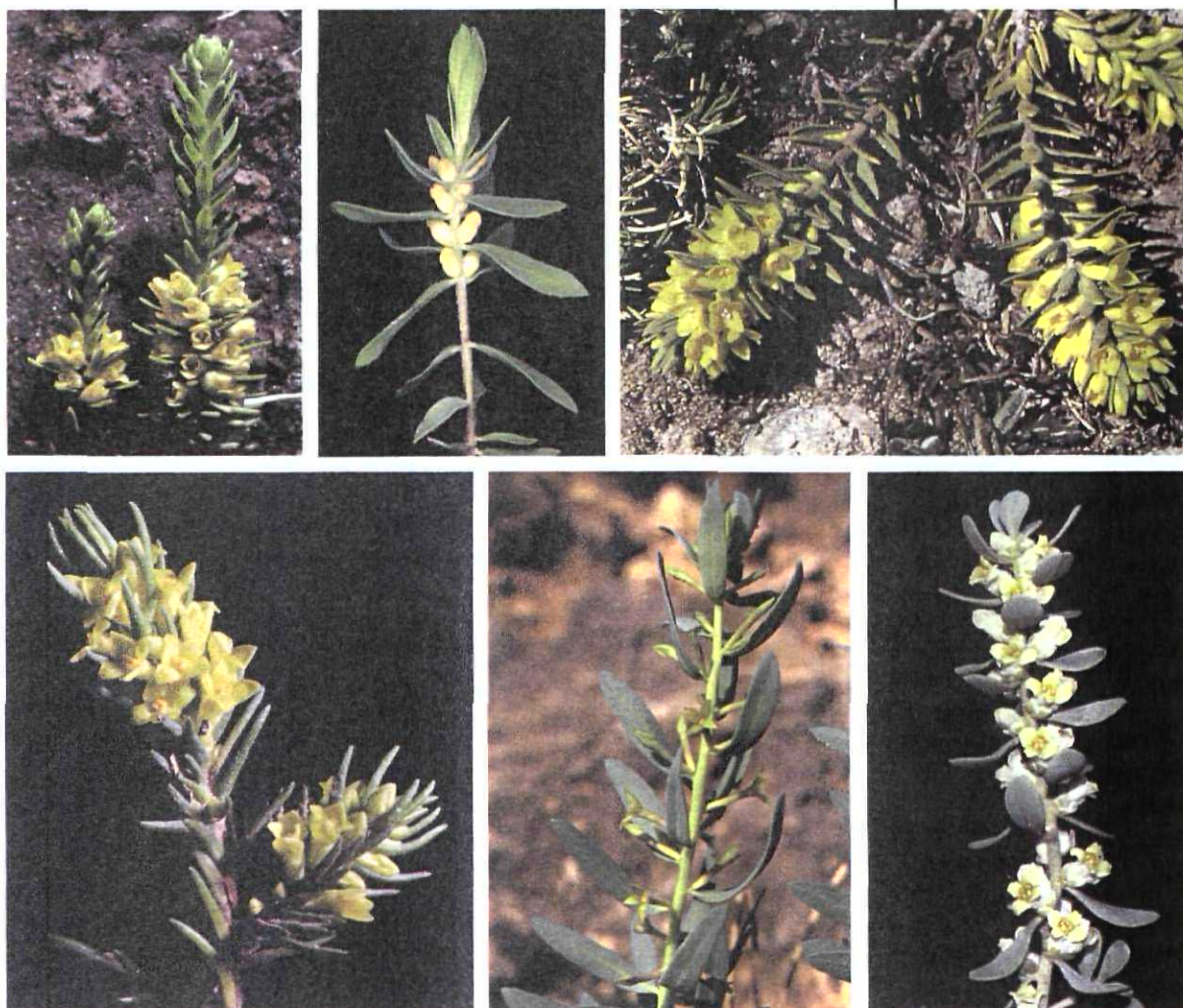






Fig. 3.4. Inflorescencias terminales y axilares en *T. granatensis*.



Fig. 3.5. Hipanto persistente por completo, con el fruto ya maduro, en *T. calycina*.

1991). Como quiera que en el caso de las especies mencionadas no se ha observado ninguno de los anteriores supuestos, se ha decidido que sus inflorescencias son ebracteadas.

10. Eje de la inflorescencia no elongado tras la antesis (0); eje de la inflorescencia elongado tras la antesis (1)

11. Inflorescencias terminales (0); inflorescencias axilares (1) (figs. 3.2-3.4)

En *T. granatensis* no es raro encontrar inflorescencias axilares además de terminales, aunque siempre resultan proporcionalmente escasas (fig. 3.4).

12. Una flor por inflorescencia (raramente dos) (0); de dos a cinco flores por inflorescencia (1); más de cinco flores por inflorescencia (raramente menos) (2)

13. Flores sentadas o subsentadas (pedicelos menores de 0,5 mm) (0); flores pediceladas (pedicelos mayores de 0,5 mm) (1)

14. Hipanto glabro o glabrescente (0); hipanto indumentado (1)

Aunque los caracteres relativos al indumento han mostrado ser altamente inconsistentes en otras partes de la planta, en el hipanto mantiene una estabilidad destacable, al menos dentro de las poblaciones.

15. Hipanto deciduo por completo en la fructificación (0); parte inferior del hipanto persistente en la fructificación, decidua la parte superior (1); hipanto persistente o subpersistente por completo en la fructificación (2) (figs. 3.5 y 3.6)

En los géneros *Diarthron* y *Stellera* el hipanto presenta una división transversal más o menos visible hacia su mitad que se hace especialmente patente en el momento de maduración del fruto, cuando sirve de línea de ruptura y permite que se pierda la parte superior del hipanto ya seco.

El polimorfismo observado en *T. velutina* y, en menor medida, en *T. tartonraira* tiene que ver con la coexistencia de frutos que poseen pericarpo seco y frutos con pericarpo carnoso. En el primer caso, el hipanto se mantiene en la planta durante la fructificación, pero en el segundo, la

turgencia del fruto provoca la ruptura de aquel y lo hace caer, permaneciendo el fruto maduro al descubierto (fig. 3.6).

16. Cara interna de los sépalos solapantes glabra (0); cara interna de los sépalos solapantes indumentada (1)

Con sépalos solapantes se hace referencia al par de sépalos enfrentados que solapan externamente al par restante antes de abrirse la flor o en la fructificación y que suelen ser algo mayores en tamaño.

17. Estilo subapical (0); estilo apical (1)

La observación de este carácter se ha realizado siempre sobre el fruto, que conserva el estilo aun después de haber completado la maduración.

18. Disco hipógino ausente o rudimentario (0); disco hipógino presente y bien desarrollado (1)

19. Pericarpo membranáceo (0); pericarpo carnoso (1)

Es posible diferenciar una notable variedad de matices en cuanto a la consistencia del pericarpo: membranácea, cartácea, coriácea, esponjosa, carnosa, etc. Sin embargo, la única división del carácter que se puede considerar suficientemente precisa es la que distingue entre una consistencia no carnosa, consecuencia de un pericarpo no hidratable, y una consistencia carnosa, consecuencia de un pericarpo hidratable.

En *Thymelaea* predomina la consistencia no carnosa y más o menos membranácea, incluso en aquellos táxones en los que la frecuencia de frutos con pericarpo carnoso es mayor, como *T. velutina* (v. TEBAR & LLORENS, 1993) y *T. tartonraira*. En esta última especie se han registrado frutos carnosos en poblaciones asignables a la subespecie *valentina* (obs. pers.) y a la subespecie *thomasii* (WOODS cit. in TAN, 1980a). Excepcionalmente, se ha encontrado algún fruto carnoso o de consistencia intermedia, indefinida, en *T. dioica* (fig. 3.6) y *T. pubescens*.

20. Estrofiolo ausente (0); estrofiolo presente (1)

En algunas especies de *Thymelaea* y *Daphne* se observa en sus semillas una estructura de color marrón que se sitúa sobre el hilo y se extiende normalmente por sus inmediaciones, sobre todo por el funículo



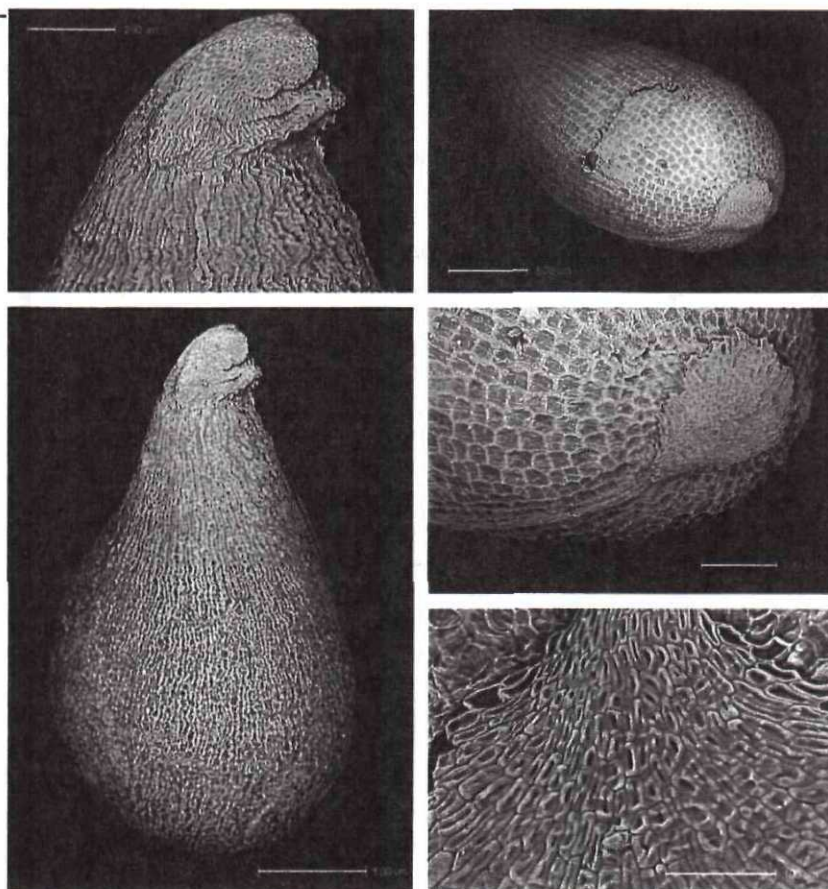
Fig. 3.6. Frutos con pericarpo carnoso en *T. velutina* (arriba) y *T. dioica* (abajo). Escala en mm).



(figs. 3.7 y 3.8). Dicha estructura, considerada un estrofiolo, está formada por células modificadas de la exotesta: poligonales, coloreadas y con paredes muy engrosadas, que dan al conjunto una consistencia coriácea y compacta, perfectamente diferenciada del resto de esta capa celular, que es, por su parte, de tipo pelicular y la mayoría de las veces incolora.

La presencia de estrofiolo en *Thymelaea* no ha sido publicada anteriormente, lo mismo que en *Daphne*. Los trabajos que han tratado hasta el momento sobre la morfología y anatomía de la semilla en la familia *Thymelaeaceae* (LECOMTE, 1914; GUÉRIN, 1916; NETOLITZKY, 1926; FUCHS, 1938; VENKATESWARLU, 1945; 1947; CORNER, 1976; TAN, 1980a; TAKHTAJAN, 1992) no hacen ninguna mención al respecto. Las descripciones de algunos de estos autores para los géneros nombrados contienen indicaciones que podrían hacer referencia a las células que componen el estrofiolo, pero son extremadamente vagas e imprecisas y, en cualquier caso, nunca reconocen una estructura definida y localizada

Fig. 3.7. Imágenes de la carúncula de *Thymelaea villosa* (izquierda) y del estrofiolo de *T. tinctoria* subsp. *tinctoria* (derecha) obtenidas al microscopio electrónico de barrido.



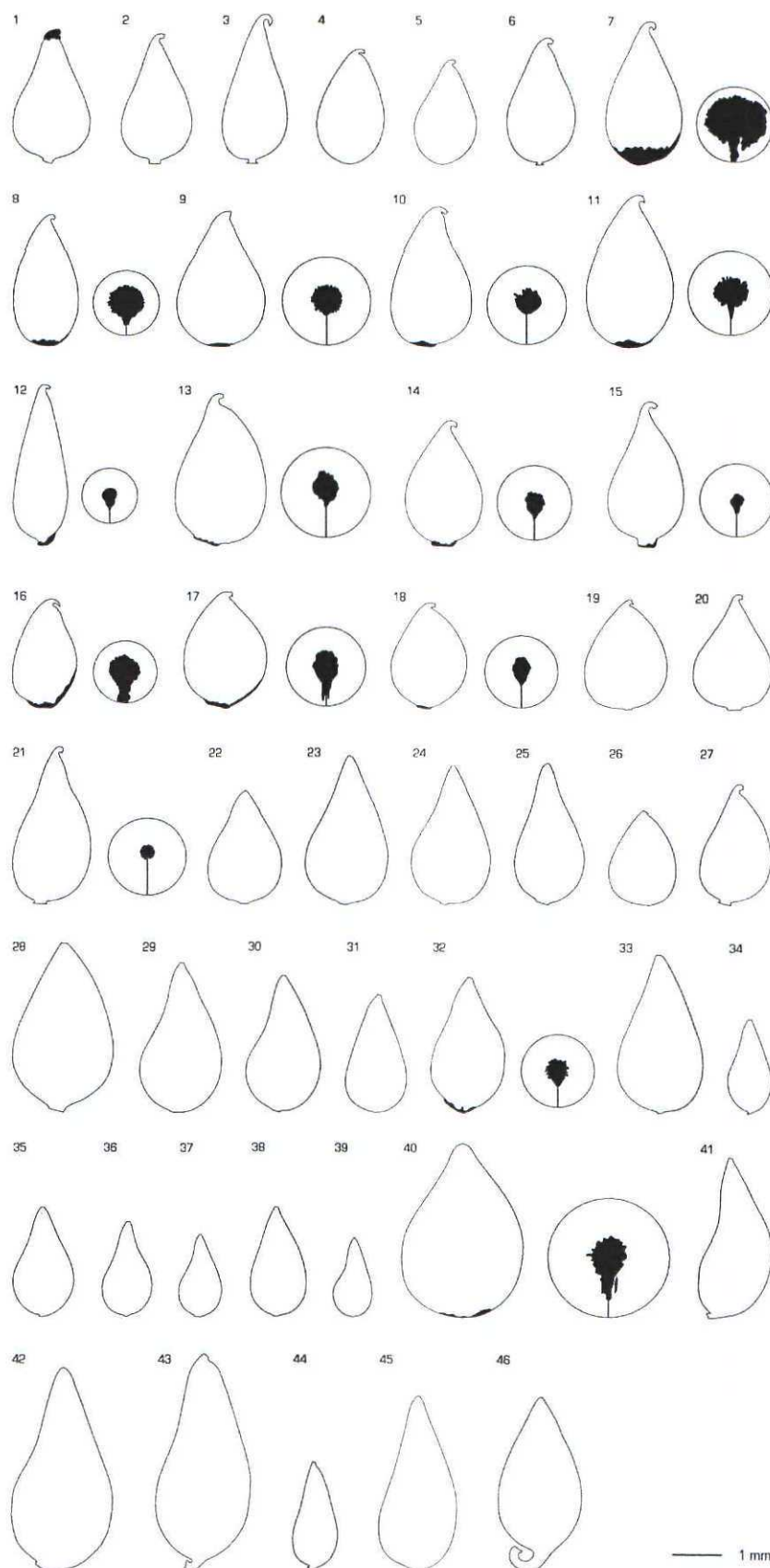


Fig. 3.8. Morfología de las semillas de *Thymelaea* y de otros géneros próximos. Vista lateral y basal cuando disponen de estrofiolo, en cuyo caso se representa también el funículo. En negro carúncula y estrofiolo. 1 *T. villosa* (España, Badajoz). 2 *T. argentata* (España, Alicante). 3 *T. broteriana* (España, Salamanca). 4 *T. coridifolia* subsp. *coridifolia* (España, La Coruña). 5 *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum* (España, Zamora). 6 *T. procumbens* (Portugal). 7 *T. tinctoria* subsp. *tinctoria* (España, Lérida). 8 *T. tinctoria* subsp. *nivalis* (España, Navarra). 9 *T. ruizii* (España, Navarra). 10 *T. calycina* (Francia). 11 *T. subrepens* (España, Cuenca). 12 *T. dioica* (España, Gerona). 13 *T. tartonraira* subsp. *tartonraira* (Marruecos). 14 *T. tartonraira* subsp. *tartonraira* (España, Almería). 15 *T. tartonraira* subsp. *valentina* (España, Valencia), semilla perteneciente a un fruto con pericarpo carnoso. 16 *T. tartonraira* subsp. *angustifolia* (España, Granada). 17 *T. tartonraira* subsp. *argentea* (Chipre). 18 *T. tartonraira* subsp. *thomasii* (Francia, Córcega). 19 *T. velutina* (España, Mallorca), semilla perteneciente a un fruto con pericarpo seco. 20 *T. velutina* (España, Menorca), semilla perteneciente a un fruto con pericarpo carnoso. 21 *T. putorioides* (Marruecos). 22 *T. granatensis* (España, Jaén). 23 *T. pubescens* subsp. *pubescens* (España, Huesca). 24 *T. pubescens* subsp. *elliptica* (España, Almería). 25 *T. sanamunda* (España, Tarragona). 26 *T. hirsuta* (España, Castellón). 27 *T. lanuginosa* (España, Cádiz). 28 *T. lythroides* (Marruecos). 29 *T. virgata* subsp. *virgata* (Argelia). 30 *T. virgata* subsp. *broussonetii* (Marruecos). 31 *T. antiatlantica* (Marruecos). 32 *T. microphylla* (Argelia). 33 *T. virescens* (Marruecos). 34 *T. cilicica* (Turquía). 35 *T. aucheri* (Turquía). 36 *T. passerina* (España, Madrid). 37 *T. salsa* (Marruecos). 38 *T. gussonei* (España, Gerona). 39 *T. mesopotamica* (Irán).



Fig. 3.8. [continuación]. 40 *Daphne gnidium* (España, Orense). 41 *Wikstroemia canescens* (Nepal). 42 *Wikstroemia* (= *Restella*) *albertii* (Uzbekistán). 43 *Diarthron* (= *Stelleropsis*) *antoninae* (Irán). 44 *Diarthron vesiculosum* (Irán). 45 *Diarthron* (= *Dendrostellera*) *lessertii* (Irán). 46 *Stellera chamaejasme* (China).

equivalente a la que aquí se ha tratado como tal. Así, GUÉRIN (1916) señala que un engrosamiento de las paredes celulares no se observa más que en las células epidérmicas del tegumento externo de *Daphne*, *Diarthron linifolium* Turcz. y *Dirca palustris* L. CORNER (1976) sintetiza los conocimientos adquiridos sobre la semilla hasta el momento de publicarse su trabajo, recogiendo lo dicho por Guérin y añadiendo la existencia de apéndices de este tipo en la familia: "Aril ? in *Aquilaria*, *Gyrinopsis*, *Lethedon*, *Solmsia*". TAN (1980a) no menciona el engrosamiento de las paredes, pero indica que en *Daphne* la exotesta está a veces pigmentada.

La presencia o ausencia de estrofiolo es un carácter constante dentro de las especies. Sólo en los casos de las próximas *T. ruizii* y *T. calycina* se ha registrado variabilidad. No es útil, en cambio, por su excesivo polimorfismo, el tamaño del mismo.

Mucho más rara que la presencia de estrofiolo es la de carúncula, que posee las mismas características que aquel, pero se sitúa en la zona micropilar y suele ser de menor tamaño, en ocasiones prácticamente vestigial (figs. 3.7 y 3.8). Sólo se ha observado con constancia y de entidad en *T. villosa*, si bien también ha aparecido, muy ocasionalmente y extremadamente reducido, en *T. subrepens* y *D. cneorum*. Como en el caso del estrofiolo, no se tiene constancia de ningún escrito anterior que haya registrado su presencia en los géneros mencionados.

21. Hilo plano o ligeramente abultado y nunca revuelto (0); hilo prominente y con frecuencia revuelto (1) (fig. 3.8)

En *Thymelaea*, y en otros géneros de la misma familia, se observa en algunas especies un saliente o prolongación en la región calazal sobre cuyo extremo se sitúa el hilo. En este género dicho saliente nunca llega a ser tan conspicuo como en *Stellera* o *Aquilaria* Lam., en los que su mayor entidad le ha hecho merecedor de la denominación de apéndice (LECOMTE, 1914; CORNER, 1976).

Este carácter hace referencia al hilo únicamente en sentido topográfico, pues el abultamiento se ajusta perfectamente a él.

El término revuelto se refiere al borde del tegmen que rodea el hilo, el cual se curva a menudo hacia el exterior cuando este último es suficientemente prominente.

22. Pico de la semilla nada o apenas diferenciado y recto (0); pico de la semilla claramente diferenciado y curvo (1) (fig. 3.8)

La forma de las semillas en la familia *Thymelaeaceae* puede describirse casi siempre como de cónico-ovoídea a piriforme, por lo que cabe distinguir un extremo más o menos afilado que, si se prolonga de manera diferenciada del resto de la semilla, se ha llamado pico. Normalmente, la diferenciación del pico lleva pareja la curvatura del mismo, desde unos pocos grados hasta más de ciento ochenta. Si bien el grado de curvatura ha mostrado ser muy variable dentro de una misma especie, no ha sido así respecto a que se presente curvado o no o, lo que resulta prácticamente equivalente, diferenciado frente a no diferenciado.

En la tabla 3.1 puede verse la matriz de datos construida según la codificación anterior.

### 3.1.3. Análisis preliminar de los datos

La divergencia observada entre cada par de táxones se calculó como valor absoluto, esto es, según el número total de caracteres en los que difieren.

Con el fin de comprobar si los datos poseen una estructura jerárquica interpretable como señal filogenética (*i.e.*, no atribuible al azar) se aplicó el estadístico  $g_1$  (SOKAL & ROHLF, 1981). Este estadístico mide el grado de asimetría de la distribución seguida por las longitudes de árboles generados aleatoriamente a partir de los datos. La asimetría a que dan lugar unos datos estructurados queda cuantificada por un valor negativo de  $g_1$ , de manera que a menor valor mayor es la señal contenida en ellos (HILLIS & HUELSENBECK, 1992). El test se efectuó con el programa PAUP 4.0B6 (SWOFFORD, 2001) sobre 100.000 árboles aleatorios.

### 3.1.4.

## Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia

La matriz de datos expuesta en la tabla 3.1 se sometió a los análisis sin y con pesaje diferencial de caracteres que se detallan a continuación. Todos ellos se llevaron a cabo con el programa PAUP en un ordenador Macintosh G3.

En dichos análisis se emplearon búsquedas heurísticas con el criterio de parsimonia de Fitch (*i.e.*, caracteres no ordenados; FITCH, 1971) y las opciones y valores de los parámetros siguientes:

- Árbol de partida obtenido mediante *stepwise addition*.
- Incorporación de secuencias aleatoria (*random*).
- Optimización de caracteres: *accelerated transformation* (ACCTRAN).
- Algoritmo de reorganización: *tree-bisection-reconnection* (TBR).
- Colapso de ramas con longitud máxima cero.
- Salvar todos los árboles de mínima puntuación: sí (MulTrees).
- Interpretación de polimorfismos: polimorfismo (*polymorphism*).

Este análisis se repitió 100 veces en cada caso con el fin de incrementar la probabilidad de encontrar todos los árboles de máxima parsimonia (MADDISON, 1991). Los árboles resultantes se resumieron en topologías de consenso estricto.

En análisis independiente se aplicó el pesaje por aproximaciones sucesivas propuesto por FARRIS (1969; 1989), encaminado a reforzar la señal filogenética contenida en los datos (FITCH & YE, 1991; GOLOBOFF, 1993; SIMON & *al.*, 1994). La asignación de pesos se hizo según el valor máximo de su índice de consistencia redimensionada (*rc*) en los árboles obtenidos tras el análisis con parsimonia bajo las condiciones expuestas con anterioridad. Posteriormente siguieron varias rondas de pesaje y búsqueda hasta que se obtuvieron pesos, longitudes y topologías idénticas en dos rondas sucesivas. Debido a la presencia no despreciable de polimorfismos en la matriz se utilizó la longitud mínima (*i.e.*, número mínimo posible de cambios) de cada carácter, en vez del rango, para calcular el valor de sus *rc* correspondientes.

En todos los casos se realizaron además análisis de *bootstrap*



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
<i>T. antiatlantica</i>	1	1	1	0	0	2	1	03	2	0	1	2	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
<i>T. argentata</i>	2	0	1	1	0	2	1	0	0	0	0	2	0	1	2	01	0	0	0	0	1	1
<i>T. aucheri</i>	1	1	1	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	01	0	0	0	1	0
<i>T. broteriana</i>	2	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1
<i>T. calycina</i>	2	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	01	0	1
<i>T. cilicica</i>	1	1	01	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	1	0
<i>T. coridifolia</i>	2	0	0	0	0	02	1	0	1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	1
<i>T. dioica</i>	2	0	0	0	0	2	1	03	2	0	1	1	0	0	2	0	0	0	0	1	1	1
<i>T. gattefossei</i>	2	0	01	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	?	1	?	0	?	?	?	?
<i>T. granatensis</i>	2	1	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2	0	01	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. gussonei</i>	0	1	1	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
<i>T. hirsuta</i>	2	1	01	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	01
<i>T. lanuginosa</i>	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	2	1	01	0	0	0	1	1
<i>T. lythroides</i>	2	0	01	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	2	1	01	0	0	0	1	01
<i>T. mesopotamica</i>	0	1	0	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
<i>T. microphylla</i>	2	1	1	0	0	2	1	0	0	0	0	1	0	1	2	1	01	0	0	1	01	0
<i>T. passerina</i>	0	1	1	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
<i>T. procumbens</i>	2	0	0	1	0	2	1	0	1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	1	1
<i>T. pubescens</i>	1	1	1	0	0	2	1	01	0	0	1	1	0	01	2	0	01	0	0	0	01	0
<i>T. putorioides</i>	2	1	1	0	0	2	1	0	0	0	0	2	0	1	2	1	0	0	0	1	1	1
<i>T. ruizii</i>	2	0	0	1	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	01	0	1
<i>T. salsa</i>	0	1	1	0	0	2	1	3	1	0	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0
<i>T. sanamunda</i>	1	1	1	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	01	2	0	01	0	0	0	01	0
<i>T. sempervirens</i>	2	1	1	0	0	2	1	0	2	0	01	2	0	1	?	1	1	0	?	?	?	?
<i>T. subrepens</i>	2	0	0	0	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1
<i>T. tartonraira</i>	2	0	0	0	0	2	1	0	2	0	1	1	0	1	02	01	0	0	01	1	1	1
<i>T. tinctoria</i>	2	0	0	1	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1
<i>T. velutina</i>	2	0	0	0	0	2	1	0	2	0	1	1	0	1	02	01	0	0	01	0	01	1
<i>T. villosa</i>	2	0	1	1	0	2	1	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	1	1
<i>T. virescens</i>	2	0	1	1	0	2	1	2	0	0	0	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. virgata</i>	1	1	1	0	0	2	1	03	2	0	1	2	0	1	2	1	1	0	0	0	0	0
<i>Da. cneorum</i>	2	0	0	?	0	1	01	1	0	0	0	2	1	1	2	0	1	1	1	1	1	0
<i>Da. gnidium</i>	2	0	1	1	0	1	01	0	0	1	0	2	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0
<i>Di. vesiculosum</i>	0	1	1	1	2	2	1	3	0	1	0	2	1	1	1	0	01	0	0	0	01	0
<i>Di. antoninae</i>	1	1	1	1	2	2	0	0	0	1	0	2	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0
<i>Di. lessertii</i>	1	1	0	1	2	2	1	0	0	1	0	2	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>S. chamaejasme</i>	1	1	0	0	2	12	0	0	2	0	0	2	1	01	1	0	1	1	0	0	1	0
<i>W. albertii</i>	2	0	1	1	2	2	0	3	0	0	1	2	1	1	2	0	1	1	0	0	1	0
<i>W. canescens</i>	2	0	1	1	2	1	0	0	0	1	01	2	1	1	2	0	1	1	0	0	1	0

como medio de obtener índices de apoyo relativo para los clados (FELSENSTEIN, 1985; HILLIS & BULL, 1993). La matriz se sometió a 100 procesos de remuestreo, efectuándose para cada uno diez búsquedas

**Tab. 3.1.** Matriz de datos morfológicos utilizada en los análisis filogenéticos. Véase el texto para la identificación y codificación de los caracteres. ?: estado desconocido o incierto.



heurísticas con las mismas opciones indicadas más arriba. El número máximo de árboles retenidos se fijó en 5.000 con el fin de reducir el tiempo de procesado. En los análisis con pesaje sucesivo la probabilidad de remuestreo se mantuvo igual para todos los caracteres, pero se tuvo en cuenta su peso.

El método heurístico de búsqueda fue el único aplicable dadas las características de los datos analizados. Si bien no es un método exacto, se le considera capaz de producir resultados exitosos si se efectúan suficientes repeticiones que aseguren una amplia gama de árboles de partida y se evalúan las reorganizaciones posibles en dichos árboles mediante un criterio apropiado (KITCHING, 1992; SWOFFORD & *al.*, 1996).

### 3.2.

## Análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares

### 3.2.1.

#### Elección y procedencia del material vegetal

Se ha utilizado material vegetal correspondiente a treinta especies de *Thymelaea* y a ocho especies situadas en géneros próximos, en su mayor parte recogido directamente de poblaciones silvestres y desecado en gel de sílice. Cuando no fue posible obtenerlo de este modo se hizo uso de material prensado. Los táxones incluidos en el estudio, la procedencia del material y la identificación de los pliegos testigo se resume en el apéndice 7.2.

Se encuentran representadas todas las secciones y subsecciones del género *Thymelaea*, todas sus especies, excepto *T. gattefossei*, y buena parte de las subespecies aceptadas en la revisión que de este género hizo TAN (1980a). Para algunas especies se analizó más de un representante, cada uno situable casi siempre en un extremo de la variación fenotípica conocida de la especie. Se ha utilizado también material de *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum* y de *T. granatensis*, táxones no considerados en dicha revisión.

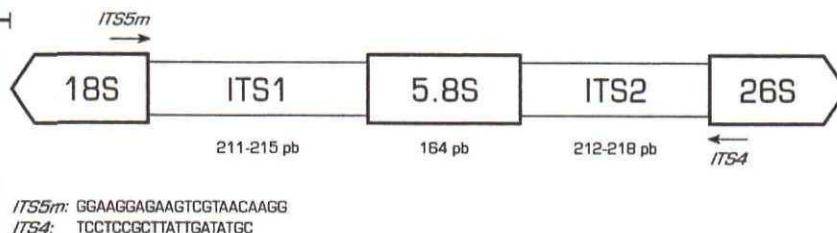
Al igual que en los análisis basados en caracteres morfológicos, los géneros *Daphne*, *Wikstroemia* (incl. *Restella*), *Diarthron* (*sensu* TAN, 1982) y *Stellera* fueron utilizados como grupo externo. En análisis independientes se incorporó una secuencia más correspondiente a *Gnidia carinata* Thunb., cuya posición suficientemente alejada respecto al resto de los táxones se aprovechó para investigar las relaciones entre *Thymelaea* y los géneros mencionados.

### 3.2.2.

#### Región del ADN analizada

La elección de la región del genoma en la que basar un análisis filogenético se apoya, en primer lugar, en el nivel taxonómico donde se des-

Fig. 3.9. Posición relativa de los espaciadores ITS1 e ITS2 respecto a los genes 18S, 5.8S y 26S del ADN ribosómico nuclear. La localización de los cebadores utilizados para la amplificación y secuenciación de la región estudiada se indica con flechas y su secuencia nucleotídica se muestra bajo el diagrama. Los espaciadores y el gen 5.8S se han dibujado a escala, especificándose además su longitud en las secuencias analizadas.



envuelve el estudio. Ello es debido a que la tasa evolutiva del ADN (sea del tipo o familia que sea) no es homogénea en toda su extensión, de modo que es necesario encontrar aquella región que muestre la variabilidad adecuada al grado de divergencia supuesto para los táxones analizados; este último viene indicado, *grosso modo*, por su tratamiento taxonómico previo.

Aparte de ser capaz de mostrar una resolución al nivel adecuado, la región a estudiar debe poseer otras características que hagan factible su utilización, entre las que se cuentan que pueda ser examinada con relativa facilidad en el laboratorio (*i.e.*, fácilmente identificable, amplificable y secuenciable), que sea alineable sin ambigüedad y que sea filogenéticamente interpretable. Finalmente, es necesario que proporcione un número suficientemente alto de caracteres potencialmente útiles.

La región de los espaciadores intergénicos transcritos (ITS) del ADN nuclear que codifica para el ARN ribosómico reúne las características antes mencionadas y está demostrando una utilidad destacada en la reconstrucción de relaciones interespecíficas en plantas. Esta última afirmación es sencilla de corroborar repasando las publicaciones científicas sobre sistemática y filogenia vegetal aparecidas en el pasado lustro (*v.* además las revisiones de BALDWIN & *al.*, 1995 y HERSHKOVITZ & *al.*, 1999).

La región de los ITS se compone en eucariotas de los espaciadores ITS1 e ITS2 y del gen 5.8s. Junto con los genes 18s y 26s y los espaciadores ETS e IGS forman la unidad de repetición del llamado ADN ribosómico (fig. 3.9)(APPELS & HONEYCUTT, 1986), constituido típicamente en vegetales por miles de copias de dicha unidad localizadas en uno o en múltiples loci cromosómicos (JORGENSEN & CLUSTER, 1988; LAPITAN, 1992; HAMBY & ZIMMER, 1992). Afortunadamente para el proceso de reconstrucción filogenética todas estas copias no evolucionan independientemente, sino que lo hacen de manera concertada (ARNHEIM & *al.*, 1980; DOVER & COEN, 1981; DOVER, 1982; ARNHEIM, 1983); ello provoca, normalmente, una homogeneización de todas las secuencias que integran el



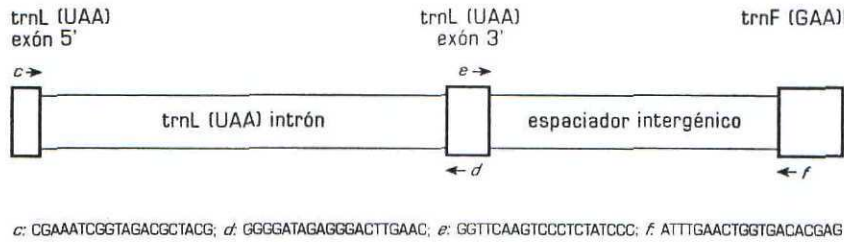
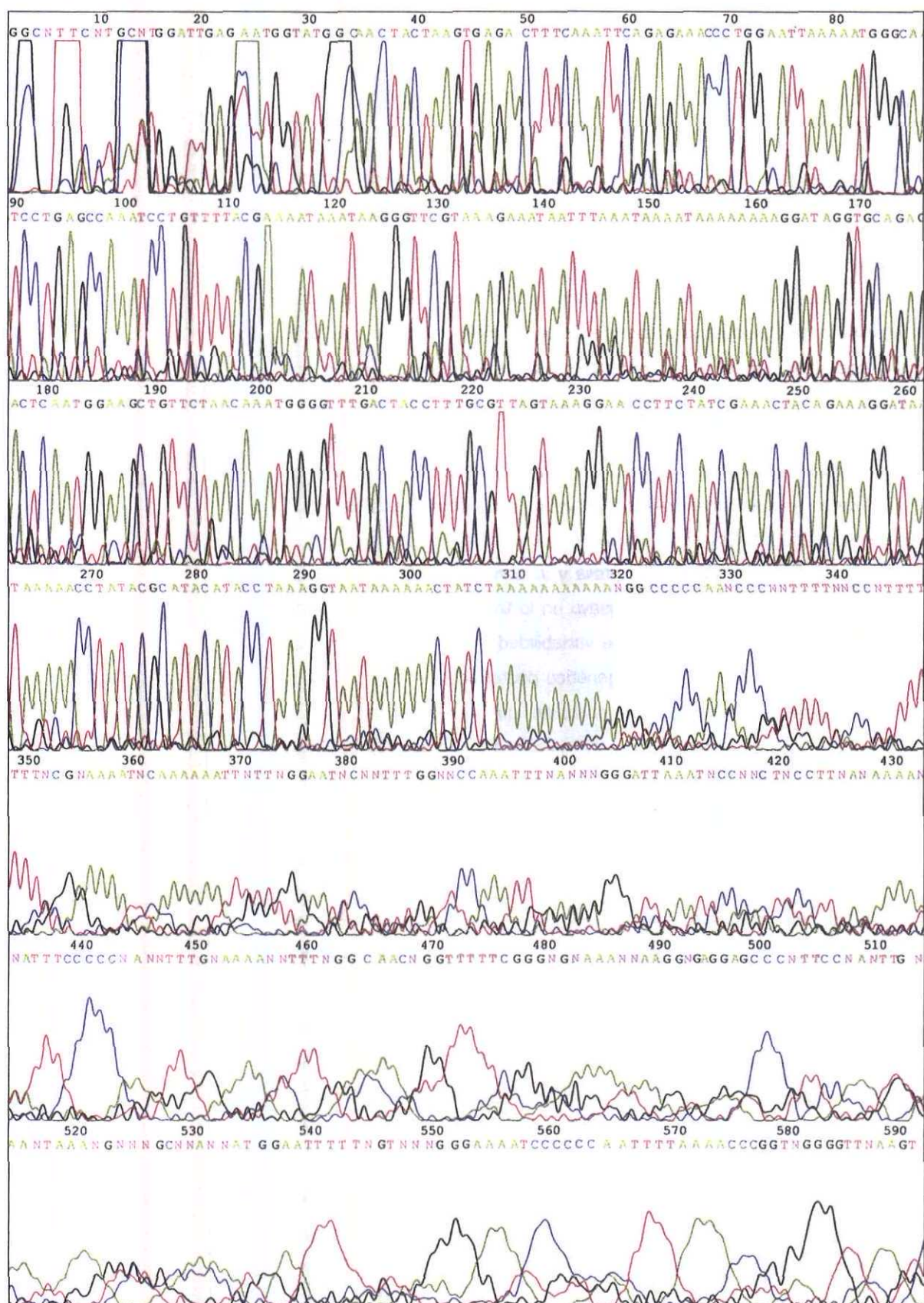


Fig. 3.10. Posición relativa de las regiones no codificantes (intrón y espaciador) del ADN cloroplástico cuya secuenciación resultó fallida. La localización de los cebadores de TABERLET *Et al.* (1991), utilizados para la amplificación y secuenciación, se indica con flechas y su secuencia nucleotídica se muestra bajo el diagrama.

conjunto de copias, permitiendo así que la reconstrucción de las relaciones entre especies no se vea confundida. La elevada eficacia de este mecanismo hace escasa la presencia de polimorfismos, por lo que, además, posibilita el trabajo con muestras de hasta un solo individuo por especie.

La utilidad potencial de esta región para el estudio de las relaciones filogenéticas en *Thymelaea* se precisó mediante un ensayo preliminar en el que se secuenciaron varios táxones presumiblemente situados en los extremos de diferenciación del género: *T. passerina*, *T. tartonraira*, *T. velutina*, *T. coridifolia* subsp. *coridifolia* y *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum*. Los buenos resultados del ensayo en lo tocante a la obtención de las secuencias, así como al nivel de variabilidad encontrado, determinaron su elección para el análisis filogenético posterior.

Conviene tener presente, no obstante, que la extrapolación de las relaciones filogenéticas obtenidas a partir de un único gen o fragmento al grupo de táxones al que pertenecen las secuencias puede no ser correcta si éstas no reflejan la trayectoria evolutiva seguida por los propios táxones. Debido a este riesgo es recomendable obtener evidencias de algún otro fragmento o conjunto de datos independiente (DOYLE, 1992). Con este propósito se investigaron también dos de las regiones no codificantes comprendidas entre los genes *trnT* (UGU) y *trnF* (GAA) del ADN cloroplástico (ADNcp): el intrón *trnL* (UAA) y el espaciador intergénico *trnL* (UAA)-*trnF* (GAA) (fig. 3.10). Estos fragmentos se propusieron hace una década para ser secuenciados y utilizados en la resolución de relaciones interespecíficas e intergenéricas (TABERLET & *al.*, 1991); sin embargo, pronto se vio que el grado de divergencia a este nivel variaba notablemente dependiendo del género estudiado, pudiendo llegar a presentar valores extremadamente bajos (GIELLY & TABERLET, 1994a; 1994b; McDADE & MOODY, 1999). Este hecho hizo especialmente recomendable la realización de estudios piloto para determinar su utilidad en cada caso en particular. En el que nos ocupa, dicho estudio se llevó a cabo secuen-





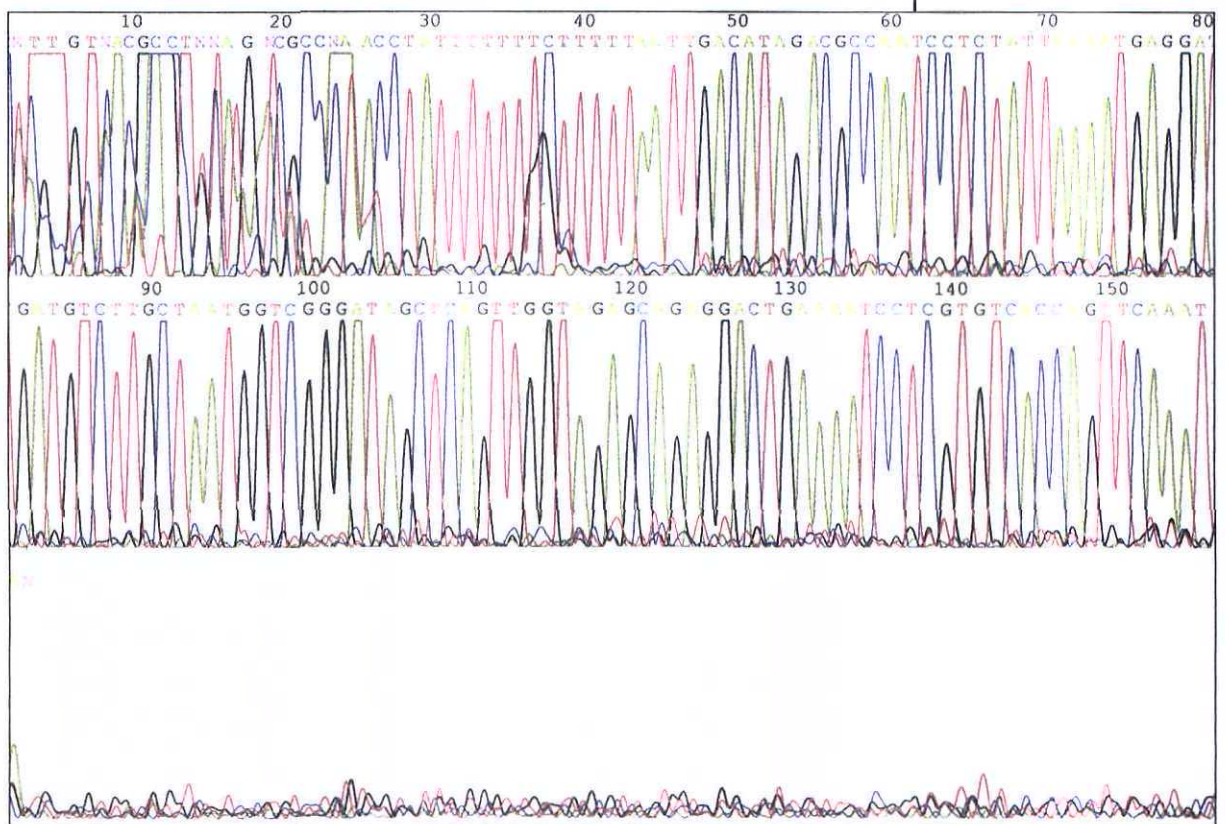
ciendo los fragmentos mencionados en varios táxones pertenecientes a *Thymelaea* y en un representante del género *Daphne*. A causa de la baja variabilidad encontrada y, sobre todo, de los problemas de secuenciación (figs. 3.11 y 3.12) se desestimó la extensión del análisis al resto de los táxones.

Para concluir este apartado resulta oportuno hacer un breve comentario sobre las secuencias disponibles actualmente para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas en el nivel interespecífico.

El uso de secuencias de ADN en vegetales para resolver relaciones entre especies y entre géneros estrechamente emparentados se inicia al comienzo de la pasada década. Hasta entonces este problema se venía abordando mayoritariamente mediante el análisis de fragmentos de restricción (RFLPs) procedentes del ADN cloroplástico (PALMER & *al.*, 1988; CLEGG, 1993; OLMSTEAD & PALMER, 1994; JANSEN & *al.*, 1998). Las ventajas, esencialmente técnicas, de utilizar las secuencias directamente, subrayadas en parte por los buenos resultados que se estaban obteniendo con el gen *rbcl* en el nivel supragenérico y, en animales, con el

Fig. 3.11. [pág. anterior]. Cromatograma del intrón trnL (UAA) correspondiente a *Thymelaea passerina* proporcionado por el secuenciador automático. En él se puede apreciar el marcado descenso de la señal de fluorescencia que se produce a partir del polinucleótido de adenina situado en la posición 309, lo que da lugar a una lectura confusa y poco fiable de la secuencia.

Fig. 3.12. Cromatograma del espaciador trnL (UAA)-trnF (GAA) correspondiente a *Thymelaea passerina* proporcionado por el secuenciador automático. En él se puede apreciar la brusca caída de la señal de fluorescencia que se produce a partir de la posición 156, lo que impide por completo la lectura de la secuencia.



ADN mitocondrial, impulsaron la búsqueda de regiones lo suficientemente variables como para resultar informativas en niveles taxonómicos bajos. Dicha búsqueda estuvo dirigida en especial a las regiones no codificantes del ADNcp y desveló la utilidad de algunas de ellas en el ámbito señalado (p. ej. VAN HAM & *al.*, 1994; MANEN & NATALI, 1995; GIELLY & TABERLET, 1994a, 1996; DOWNIE & *al.*, 1996; KELCHNER & CLARK, 1997; BÖHLE & *al.*, 1994, 1996; SANG & *al.*, 1997). Sin embargo, al irse acumulando resultados, se ha ido constatando que tal utilidad no es generalizable, sino que depende del grupo de táxones estudiado y, en todo caso, que su poder resolutivo es siempre comparativamente bajo respecto a la mayoría de las secuencias no codificantes del ADN nuclear (GIELLY & *al.*, 1996; SMALL & *al.*, 1998; ÁLVAREZ & *al.*, 2001; CRONN & *al.*, 2002). Precisamente, debido a estos hechos y a la necesidad de testar de manera independiente los resultados obtenidos utilizando secuencias cloroplásticas, las secuencias del ADN nuclear han ido tomando el relevo a las del ADNcp en cuanto al tipo de marcador molecular utilizado con preferencia en la reconstrucción de relaciones evolutivas interespecíficas (SOLTIS & SOLTIS, 1998). La responsabilidad de esta inversión de la situación hay que adjudicársela casi exclusivamente a la región de los ITS del ADNr. En efecto, a día de hoy, la región de los ITS constituye la más potente de las secuencias —y muchas veces la única prácticamente útil— para la resolución de filogenias en niveles taxonómicos bajos.

### 3.2.3. Protocolos de laboratorio

#### 3.2.3.1. Extracción y cuantificación del ADN

Se extrajo ADN total de hojas jóvenes desecadas en gel de sílice (CHASE & HILLIS, 1991) o conservadas en pliegos de herbario pertenecientes a un individuo de cada taxon o población estudiada. El protocolo seguido para la extracción es el del Bromuro de cetilmetilamonio (CTAB) descrito por SAGHAH-MAROOF & *al.* (1984), según la versión de DOYLE (1991) con algunas modificaciones:

1.- En un mortero de porcelana se pulverizaron con nitrógeno líquido 10 mg de planta desecada.

2.- Una vez evaporado el nitrógeno, el polvo resultante se homogeneizó con 900 µl de tampón de extracción (CTAB 4%, NaCl 1,4M, EDTA 20mM, 2-mercaptoetanol 0,2%, Tris-HCl 100mM pH 8,0) previamente calentado a 60° C.

3.- Traspasado el homogeneizado a un tubo de microcentrífuga esterilizado de 1,5 ml, se dejó macerar en baño maría a 60° C durante 60 min con agitación periódica cada 10 min aproximadamente.

4.- Se añadieron después 600 µl de cloroformo-isoamil alcohol (24:1), tras lo cual se agitó vigorosamente hasta conseguir una emulsión. Seguidamente se centrifugó la mezcla a 8.000 rpm 10 min.

5.- Separadas las fases acuosa, portadora del ADN, y orgánica, se recogió la primera (600-700 µl) y se pasó a un tubo nuevo esterilizado de 1,5 ml. El tubo con la fase orgánica se deshechó.

6.- Repetición de los pasos 4 y 5.

7.- A los aproximadamente 600 µl obtenidos tras el doble paso por cloroformo-isoamil alcohol se añadieron 400 µl de isopropanol frío (-20° C), se mezcló suavemente y se dejó precipitar durante 12-14 horas a 4° C.

8.- Ocurrida la precipitación se centrifugó a 7.000 rpm 2 min para poder deshechar el sobrenadante manteniendo el precipitado en el fondo del tubo, al cual se añadieron 1.500 µl de solución de lavado (etanol 76%, acetato amónico 10mM). Seguidamente se dejó en reposo 30 min.

9.- Transcurrido el tiempo de lavado se centrifugó a 8.000 rpm 10 min, deshechándose después el sobrenadante y dejando secar el precipitado 10 min.

10.- El precipitado se resuspendió posteriormente en 100 µl de agua destilada estéril, se añadieron 10 µl de RNAsa en disolución (0,1



mg/ml), se mezcló bien y se incubó a 37° C durante 30 min en baño maría.

11.- Se añadieron después 200 µl de agua destilada estéril, 100 µl de acetato amónico 7,5M y 1.000 µl de etanol absoluto a -20° C, seguido de una agitación suave.

12.- A continuación se centrifugó a 10.000 rpm 10 min a 4° C, se decantó rápidamente el sobrenadante y se secó bien el precipitado con la ayuda de una bomba de vacío.

13.- Finalmente se resuspendió el precipitado en una cantidad adecuada de agua destilada estéril: 100 o 200 µl según la viscosidad del extracto.

El ADN total de *Stellera chamaejasme* fue amablemente suministrado por M.W. Chase (Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, Inglaterra).

La extracción del ADN de *T. sempervirens* se realizó con el kit Dneasy Plant Mini Kit (QIAGEN Sciences, Germantown, Madison, EE.UU.), siguiendo el protocolo especificado en el manual.

El resultado de las extracciones y la concentración del ADN extraído se comprobó y cuantificó respectivamente corriendo 7 µl de cada extracto y 10 µl (100 ng) de marcador de peso molecular λHindIII (USB, Cleveland, Ohio, EE.UU.) en gel de agarosa al 1%. Este método de cuantificación se mostró más adecuado que la cuantificación con espectrofotómetro debido a la poca cantidad de ADN a cuantificar y a la similar absorbancia de los polisacáridos inevitablemente presentes en los extractos.

Tras comprobar que los mencionados polisacáridos no afectaban a la reacción de amplificación los extractos se conservaron a - 20° C hasta su utilización posterior.

Respecto al proceso de extracción es destacable la dificultad impuesta por los mucopolisacáridos contenidos en las hojas (fig. 3.13), no sólo para conseguir unos extractos de utilidad en las reacciones de amplificación, sino también para llevar a cabo el propio proceso de extracción. Efectivamente, la viscosidad obtenida ya en el mismo homogeneizado inicial, con los numerosos protocolos habituales y muchas de



las variantes probadas, era de tal calibre que hacía normalmente intratables las disoluciones y precipitados resultantes en las distintas etapas del proceso. Finalmente, se comprobó que era clave utilizar una proporción inusualmente alta entre tampón de extracción y peso de planta desecada (90 µl/mg). Resultó igualmente práctico utilizar una concentración elevada de CTAB en el tampón de extracción (4%), así como efectuar un doble paso por cloroformo-isoamil alcohol después de la incubación del homogeneizado a 60° C.

El protocolo anteriormente detallado fue el que mejor resolvió el compromiso de obtener un extracto con la menor cantidad de polisacáridos y la mayor cantidad de ADN total.

La presencia de mucílago en el aparato vegetativo ha sido señalada para varios géneros dentro de la familia *Thymelaeaceae*, aunque no para *Thymelaea* (v. referencias en GREGORY & BAAS, 1989; BREDENKAMP & VAN WYK, 1999). El significado adaptativo de la acumulación de mucílago en las células epidérmicas es un asunto largamente discutido, si bien existen muy pocos estudios experimentales al respecto (v. la revisión de GREGORY & BAAS, 1989). Entre las interpretaciones funcionales que se han ofrecido, la mayoría hacen referencia a su valor en ambientes áridos, atribuyéndoles un papel como almacén de agua, como reductor de la transpiración o como reflector de luz solar intensa del mismo modo que lo hacen las cutículas cerasas o el indumento. BREDENKAMP & VAN WYK (1999) proponen de manera especulativa que en el género *Passerina* L., habitante de la región de El Cabo en Suráfrica, el mucílago puede tener una función reguladora de la hidratación. De igual modo, las anteriores interpretaciones encajan bien con el carácter xeromórfico de las especies de *Thymelaea*.

### 3.2.3.2.

#### Amplificación del ADN

La región de los espaciadores intergénicos transcritos (ITS1, gen 5.8S e ITS2) fue amplificada al completo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando los cebadores ITS4 (WHITE & *al.*, 1990) e ITS5m (SANG & *al.*, 1995). Las secuencias de los cebadores y su localización se muestran en la figura 3.9.

La reacción de amplificación fue optimizada para los siguientes parámetros: concentraciones de MgCl<sub>2</sub> y ADN molde y temperatura de *annealing*. Finalmente, para cada reacción de amplificación se prepara-

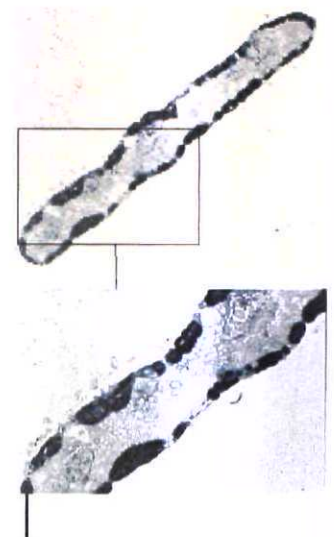


Fig. 3.13. Corte transversal de una hoja de *T. subrepens* fotografiado al microscopio óptico. Se distinguen, teñidas con Azul de Toluidina y de un tamaño superior al resto, las células epidérmicas que acumulan mucopolisacáridos.

ron 100  $\mu$ l de la siguiente mezcla:

Componentes	Vol. ( $\mu$ l)	Cf
H <sub>2</sub> O destilada estéril	38,6	-
mezcla dNTPs <sup>1</sup>	10	0,2 mM
cebadores ITS5m/ITS4	15	0,6 $\mu$ M
tampón PCR <sup>1,2</sup>	10	1x
MgCl <sub>2</sub> <sup>1</sup>	6	1,5 mM
Taq polimerasa <sup>1</sup>	0,4	0,02 U/ $\mu$ l
ADN molde	5	0,1-0,5 ng/ $\mu$ l
Vol. total	100	

<sup>1</sup> Boehringer Mannheim

<sup>2</sup> Tris-HCl 100 mM, KCl 500 mM, pH 8,3

En cada tanda de amplificación se preparó además una muestra control en la que se sustituyeron los 5  $\mu$ l de ADN molde por una cantidad igual de agua destilada estéril.

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador GeneAmp 2.400 (Perkin Elmer Corp., California, EE.UU.) programado con el siguiente perfil de trabajo:

Desnaturalización inicial:	95°C, 3 min
30 ciclos de amplificación	
Desnaturalización:	95°C, 30 seg
Annealing:	60°C, 1 min
Elongación:	72°C, 2 min
Elongación final:	72°C, 7 min

Las muestras se mantuvieron después a 4°C hasta su uso posterior.

La amplificación del fragmento correspondiente a los ITS, de aproximadamente 700 pares de bases, se confirmó mediante su visualización en gel de agarosa al 1,8 % teñido con Bromuro de etidio (0,077  $\mu$ g/ml), en el que se corrieron 5ml de los amplificados, 5  $\mu$ l de la muestra control y 5  $\mu$ l (50 ng) de marcador de peso molecular 100 Base Pair Ladder XIV (Boehringer Mannheim). La imagen se fotografió sobre un transiluminador de luz ultravioleta con una máquina Polaroid DS-34.

Por último, antes de la secuenciación de los productos de amplificación, se purificaron las muestras utilizando el *kit* GeneClean II (Bio 101, California, EE.UU.), siguiendo el protocolo indicado por el fabricante para la purificación de ADN en disolución. Los amplificados de *T. sempervirens* fueron reamplificados y vueltos a purificar del mismo modo con el fin de obtener una cantidad del fragmento suficiente para la reacción de secuenciación.

La concentración tras la purificación del fragmento amplificado se cuantificó en gel de agarosa al 1,8%, en el que se corrieron 2 µl del producto purificado y 5 µl (50 ng) del mismo marcador de peso molecular utilizado en la confirmación de la amplificación.

### 3.2.3.3.

#### Secuenciación del ADN

Las reacciones de secuenciación fueron preparadas por técnicos del Servicio Interdepartamental de Apoyo a la Investigación de la Universidad Autónoma de Madrid.

Los productos de amplificación purificados fueron secuenciados directamente mediante el método de los dideoxinucleótidos terminales (SANGER & *al.*, 1977), haciendo uso del *kit* ABI Prism Dye Terminators (Perkin Elmer Corp.) y siguiendo las instrucciones del fabricante para la secuenciación cíclica automática en un termociclador GeneAmp 9.600 (Perkin Elmer Corp.).

La secuenciación fue llevada a cabo en ambas cadenas, utilizando para ello los mismos cebadores empleados en las reacciones de amplificación (ITS4, ITS5m).

Los resultados de las reacciones fueron analizados en un secuenciador automático ABI Prism 377 (Perkin Elmer Corp.) aplicando el protocolo estándar suministrado por el fabricante.

### 3.2.4.

#### Inspección y delimitación de las secuencias

Los cromatogramas obtenidos tras la secuenciación se examinaron detenidamente con el programa CHROMAS 1.51 (Technelysium Pty.



Ltd., Queensland, Australia) y las secuencias se editaron en un procesador de textos.

Las secuencias de las cadenas complementarias tuvieron casi siempre un solapamiento del 100 %. Las posiciones polimórficas fueron identificadas en los cromatogramas por la superposición de dos picos. Cuando la diferencia de señal no fue inferior al 70 % la posición se trató como polimórfica.

Los límites de los ITS y del gen 5.8S se determinaron por comparación con las secuencias conocidas de *Gossypium* L. spp. (*Malvaceae* Juss.) existentes en el banco de secuencias GenBank (BENSON, & al. 2002). Ambos grupos de secuencias mostraron el alineamiento más significativo entre todos los resultantes de someter las secuencias propias a una búsqueda por similitud con el programa BLAST en la mencionada base de datos.

Las secuencias obtenidas han sido enviadas al banco de secuencias del Laboratorio de Biología Molecular Europeo (STOESSER & al. 2003). Los números de referencia se encuentran indicados en el apéndice 7.2.

### 3.2.5.

## Alineamiento de las secuencias

#### 3.2.5.1.

### Introducción

La validez de una hipótesis filogenética basada en el análisis de secuencias depende sustancialmente de la precisión del alineamiento, puesto que es en este paso en el que se decide la homología de los caracteres que se compararán para llegar a tal hipótesis (p. ej. MORRISON & ELLIS, 1997; MUGRIDGE & al., 2000).

La incorporación de *gaps*, necesaria cuando las secuencias comparadas varían en longitud, introduce ambigüedades en el alineamiento debido a lo incierto de su posición y número, con lo que la homología de los caracteres puede verse negativamente afectada.

Desde la aparición del algoritmo de NEEDLEMAN & WUNSCH (1970) todos los programas de ordenador dedicados al alineamiento múltiple de secuencias basan su modo de operar en la asignación de unos "costes" a los eventos evolutivos implicados en el alineamiento (sustituciones e



inserciones/delecciones). A pesar del indudable adelanto en objetividad y reproducibilidad que se atribuye a la aplicación de estos programas (THORNE & KISHINO, 1992), la mencionada asignación de "costes" a *gaps* y sustituciones está aún en manos del investigador, que no tiene un criterio objetivo para llevarla a cabo (no obstante, v. THORNE & *al.*, 1991, 1992, y las referencias aquí citadas para algunos intentos de objetivizar este paso). Diferentes "costes" suelen dar lugar a diferentes resultados (incluso puede haber diferentes resultados igualmente óptimos para unos mismos "costes"), de aquí la incertidumbre en la homología de las posiciones afectadas por los *gaps*. El problema se hace patente cuando cada posible alineamiento da lugar a distintas topologías.

La precariedad que impone esta deficiencia en el proceso de alineamiento ha impulsado la búsqueda de nuevas evidencias que ayuden a justificar la elección de un alineamiento particular entre todas las alternativas posibles y, en caso fallido, el mejor tratamiento de las regiones problemáticas en los subsiguientes análisis filogenéticos. Este último aspecto se tratará más adelante (pág. 50); respecto al primero, el estudio de la estructura secundaria ha mostrado ser de utilidad en el caso del ADNr (p. ej. KJER, 1995; HICKSON & *al.*, 1996, 2000; CHILTON & *al.*, 2001) debido a que su grado de conservación es superior al de los nucleótidos que la integran (GUTELL, 1994; HERSHKOVITZ & ZIMMER, 1996; MAI & COLEMAN, 1997; VAN DER PEER & *al.*, 1999; DE RIJCK & *al.*, 1999). No obstante, no siempre resuelve los problemas de alineamiento y su resolución no es sencilla, pues requiere la intervención de diversos parámetros que hay que optimizar y, normalmente, la elección entre varias soluciones posibles mediante algún criterio añadido.

Existen, por último, intentos de solventar estos problemas a través de una "optimización" de las secuencias sin alinear a medida que se procede a la reconstrucción filogenética, evitándose así que el alineamiento múltiple, y por tanto la inserción de *gaps*, sea un paso previo a su análisis (HEIN, 1990; WHEELER, 1996; 1999). Estas aproximaciones, aunque parecen prometedoras, son aún laboriosas e incorporan nuevos inconvenientes e incertidumbres que requieren investigación (GIRIBET & WHEELER, 1999; LUTZONI & *al.*, 2000; WHEELER, 2001; GIRIBET, 2001).

El proceso de alineamiento es pues uno de los pasos más importantes, pero también complejos y difíciles de resolver en un análisis filogenético.

Penalización	Alin.
5 / 3.33	I
10 / 4.44	II
10 / 6.66	
15 / 6.66	III
20 / 6.66	IV
20 / 8.88	
25 / 6.66	V
25 / 11.1	
30 / 6.66	
30 / 13.32	
40 / 6.66	
40 / 17.76	

Tab. 3.2. Valores ensayados de penalización por apertura/extensión de *gaps* y alineamientos diferentes obtenidos tras su aplicación (números romanos).

3.2.5.2. Procedimiento

Las secuencias fueron alineadas inicialmente mediante el programa de ordenador CLUSTAL X 1.8 (THOMPSON & *al.*, 1997), experimentando con un rango amplio de valores para los parámetros de alineamiento que penalizan la apertura y la extensión de *gaps* (tab. 3.2). Las once variantes investigadas dieron lugar a cinco alineamientos diferentes, aportando todos ellos soluciones aparentemente razonables para alguna de las regiones afectadas por la inclusión de *gaps*. Considerando estas soluciones se compuso un único alineamiento final libre de ambigüedades que pudieran afectar al análisis filogenético, salvo por la región comprendida entre las posiciones 408 y 425, que mostró varias alternativas posibles. Con el fin de maximizar la detección de posiciones homólogas en esta región y facilitar así la elección entre dichas alternativas, se estudió la estructura secundaria del ITS2. El programa mfold 3.1 (ZUKER & *al.*, 1999) sirvió para obtener las predicciones de la estructura secundaria de la molécula de pre-ARN ITS2 basadas en el criterio de mínima energía libre (ZUKER & SANKOFF, 1984; ZUKER, 2000; MATHEWS & *al.*, 2000). Los valores de partida para el cálculo fueron los ofrecidos por defecto en el programa (tab. 3.3). Para cada una de las especies se obtuvieron entre una y ocho predicciones óptimas o subóptimas posibles, entre las cuales se eligió como más probable la única que se repitió en todas las especies. Los resultados se visualizaron y editaron con el programa RnaViz 2.0 (DE RIJK & DE WACHTER, 1997).

Tab. 3.3. Valores de los parámetros empleados en el cálculo de la estructura secundaria del ITS2. \* iones divalentes no permitidos.

Temperatura de plegamiento	37° C
Condiciones iónicas*	1M NaCl
Valor de corte para predicciones subóptimas	5 %
Límite máximo de plegamientos	50
Window parameter	5
Distancia máxima entre pares de bases	ilimitada

### 3.2.6.

#### Análisis preliminar de las secuencias

La longitud media y la divergencia entre las secuencias, así como el contenido en G+C se calcularon con el programa PAUP 4.086 (SWOFFORD, 2001), teniendo en cuenta un representante por especie. Se obtuvieron valores de divergencia observados (distancia  $p$ ) y estimados considerando la probable ocurrencia de sustituciones múltiples según los modelos de Jukes-Cantor (JC; JUKES & CANTOR, 1969), general-reversible con una tasa de sustitución dependiente de la posición (REV+I; LANAVE & *al.*, 1984; RODRIGUEZ & *al.*, 1990) y la transformación LogDet (LOCKHART & *al.*, 1994), todos ellos empleados en los análisis filogenéticos (págs. 55 Y 58). Con el modelo general-reversible las distancias fueron estimadas mediante máxima verosimilitud.

La variación de la composición en bases entre las secuencias se investigó aplicando dos tests estadísticos independientes: el test de estacionariedad propuesto por RZHETSKY & NEI (1995), llevado a cabo con el programa STATIO, de los mismos autores; y el test de homogeneidad en los patrones de sustitución de KUMAR & GADAGKAR (2001), tal como aparece implementado en el programa MEGA2 (KUMAR & *al.*, 2001). En ellos se utilizó un representante por especie y se prescindió de la secuencia correspondiente al gen 5.8s que, dado su elevado grado de conservación, sigue de por sí un modelo estacionario y puede enmascarar entonces la señal contenida en los espaciadores. Ambos tests tienen en cuenta la correlación debida a la proximidad filogenética de las secuencias. Puesto que la mayoría de los métodos de reconstrucción filogenética asumen que las secuencias siguen un modelo homogéneo de sustitución (*i.e.*, las probabilidades relativas de cambio de un estado a otro son las mismas en todas las líneas evolutivas que se comparan), se considera importante conocer si esta asunción es satisfecha; de no ser así, las topologías obtenidas con estos métodos podrían resultar poco fiables (STEEL & *al.*, 1993; GALTIER & GOUY, 1998; EYRE-WALKER, 1998; TARRIO & *al.*, 2000). La relación entre los procesos de sustitución y las frecuencias de los nucleótidos resulta obvia si se tiene en cuenta que las secuencias que han evolucionado mediante el mismo proceso se espera que muestren una composición similar y viceversa.

El número de transiciones, transversiones y la razón entre ambos tipos de sustituciones se calculó con el programa MacClade 3.08a



(MADDISON & MADDISON, 1995) sobre todos los árboles de máxima parsimonia resultantes del análisis sin pesaje diferencial de caracteres (pág. 90), promediándose después cada uno de estos parámetros.

Siguiendo el planteamiento propuesto por HILLIS & HUELSENBECK (1992), la existencia de señal filogenética en los datos se comprobó mediante el estadístico  $g1$  (pág.31). El test se llevó a cabo con el programa PAUP sobre 100.000 árboles aleatorios, excluyendo las secuencias duplicadas y los caracteres constantes.

### 3.2.7.

## Tratamiento de las inserciones/delecciones

### 3.2.7.1.

#### Introducción

Ya quedó indicado cómo la presencia de *gaps* en un alineamiento impone a menudo notables dificultades en el momento de determinar la homología de las posiciones que se ven afectadas por ellos (pág. 46). Esta inconveniencia se acentúa a medida que es mayor la divergencia entre las secuencias alineadas.

La limitada capacidad de los métodos de alineamiento múltiple para superar dichas dificultades ha hecho dirigir la atención al tratamiento en los análisis de las regiones afectadas, lo que ha provocado cierta controversia sobre cuál debe preferirse entre todos los propuestos (v. LUTZONI & *al.*, 2000 para una revisión de distintos tratamientos y una nueva propuesta).

La obtención de resultados dispares dependientes del alineamiento en regiones con ambigüedades puede llevar a preferir la exclusión de dichas regiones en los sucesivos análisis (EX en la tabla 3.4). Esta es una opción conservadora que trata de evitar la incorporación de posiciones no homólogas; sin embargo, su efectividad a este respecto deja que desear si la delimitación de la región que abarca dichas posiciones no puede hacerse de manera inequívoca, lo que ocurre gran parte de las veces. La costumbre de eliminar sólo aquellos caracteres que contienen inserciones/delecciones tiene un alto riesgo de dejar fuera posiciones problemáticas. Con la exclusión, además, se suele mermar la resolución



de la reconstrucción filogenética al desecharse casi siempre una cantidad importante de caracteres informativos (p. ej. CERCHIO & TUCKER, 1998).

Una forma de no desperdiciar información potencialmente útil, evitando los frecuentes y mayores riesgos que conlleva incluir la información aportada por los *gaps*, es tratar a éstos como "datos perdidos" (DP). Esta variante no elimina los posibles problemas de homología que se puedan dar en estas posiciones y en aquellas que puedan verse afectadas por los *gaps*, a la vez que introduce el inconveniente de permitir la asignación de estados imposibles para esos caracteres en los ancestros de secuencias con *gaps* (PLATNICK & *al.*, 1991; MADDISON, 1993).

Se pueden asumir mayores riesgos incorporando toda la información disponible en los caracteres problemáticos, tanto la de las sustituciones como la de los eventos de inserción/delección, lo que se consigue considerando cada *gap* como un estado más de cada carácter (5E). En este caso, aparte del efecto negativo que pueda tener una malinterpretación de la homología en posiciones informativas, se puede estar incorporando información fatalmente redundante cuando existan *gaps* adyacentes cuya aparición ha sido consecuencia de un evento único de inserción/delección. El resultante efecto de sobrepesaje será proporcional al número de *gaps* que haya contiguos y hayan participado en el mismo evento evolutivo, con la consiguiente amplificación de una posible interpretación errónea de la homología.

La redundancia no justificada mencionada en el tratamiento anterior puede evitarse si, en vez de considerar los *gaps* como un quinto estado, se considera que cada serie de *gaps* consecutivos es el resultado de inserciones/delecciones independientes y se codifican como caracteres binarios. Haciendo ésto y excluyendo los caracteres con *gaps* (EX+ID) se aprovecha información contenida en ellos, aunque se descarta la que puedan aportar las sustituciones ocurridas en dichos caracteres. Por el motivo ya expuesto, la exclusión de caracteres no siempre asegura la eliminación completa de los problemas de homología.

La codificación de las inserciones/delecciones como caracteres binarios se puede combinar del mismo modo con la de "datos perdidos" para las posiciones con *gaps* (DP+ID). En este caso se aprovecha la información aportada por las sustituciones y los *gaps* de estos caracteres, aunque se incorporan también los inconvenientes del tratamiento DP, así como información redundante al codificar las mismas posiciones de dos maneras distintas. Puede perderse información si la interpretación de las

series de *gaps* como eventos evolutivos únicos no es correcta.

Por último, el tratamiento que cambia la codificación de los caracteres con *gaps* de multiestado a binario (EX+id) participa de las ventajas e inconvenientes de los tratamientos EX y 5E, salvo el que se refiere a la asignación de estados imposibles a los ancestros.

Los tratamientos expuestos son los aplicados con mayor frecuencia en análisis filogenéticos con datos de secuencias (p. ej. WOJCIECHOWSKI & *al.*, 1993; XIANG & *al.*, 1998; HELFGOTT & *al.*, 2000; ANDERBERG & *al.*, 2000). Otros tratamientos (WHEELER & *al.*, 1995; LUTZONI & *al.*, 2000) han sido propuestos sin llegar a resultar plenamente satisfactorios, lo que unido a su mayor sofisticación y difícil aplicabilidad les ha hecho tener menor alcance.

Como ha quedado patente, no existe ningún tratamiento libre de inconvenientes. Entre estos inconvenientes, el que tiene que ver con la homología de caracteres es especialmente importante y difícil de superar, aún sacrificando información potencialmente útil para el análisis.

La elección del tratamiento que se va a dar a los *gaps* y a las posiciones que se ven afectadas por su presencia dependerá normalmente del efecto que tengan estas posiciones sobre el resultado final y de características tales como ambigüedades en el alineamiento de las regiones de que forman parte, el número y el tamaño de las inserciones/delecciones o la cantidad de información que puedan aportar éstas y las sustituciones ocurridas en los caracteres que las contienen.

### 3.2.7.2.

#### Procedimiento

Con el fin de llevar a cabo análisis exploratorios sobre el efecto de los tratamientos antes expuestos, se construyó una matriz de datos con las secuencias y las codificaciones adicionales de los *gaps* ya mencionadas (apéndice 7.3). En dicha matriz se seleccionaron los conjuntos de caracteres adecuados al tratamiento perseguido en cada uno de los análisis exploratorios efectuados con el criterio de parsimonia (pág. 55). La región comprendida entre las posiciones 408 y 425, que mostró las mayores dificultades en el alineamiento, fue excluida de todos ellos. La existencia de posiciones ampliamente conservadas flanqueándola permitió su delimitación sin incertidumbres.

	DP	5E	DP+ID	EX+ID	EX+id	EX
Pérdida de información	+		+	+	+	+
Malinterpretación de homología	+	+	+	+	+	+
Estados imposibles en ancestros*	+		+			
Sobrepesado de caracteres		+	+		+	

Tab. 3.4. Inconvenientes que pueden afectar a los tratamientos más usuales de las posiciones con *gaps*.

\* Nótese que una malinterpretación de la homología puede, indirectamente, llevar a predecir estados imposibles en los ancestros en cualquier tratamiento.

EX: exclusión de regiones afectadas por *gaps*. DP: *gaps* codificados como "datos perdidos". 5E: *gaps* codificados como quinto estado. ID: series de *gaps* consideradas eventos únicos de inserción/delección y codificadas como caracteres binarios. id: caracteres con *gaps* codificados como caracteres binarios.

### 3.2.8.

## Consideraciones metodológicas sobre los análisis filogenéticos de secuencias

En la actualidad existen diversas aproximaciones metodológicas con las que enfrentar un análisis filogenético de secuencias. Una de las divisiones más básicas de tales aproximaciones es la que distingue entre aquellas que se valen de un método exclusivamente algorítmico y aquellas cuyo método, además de un algoritmo de búsqueda de topologías posibles, utiliza un principio o criterio objetivo de optimización (máxima parsimonia, evolución mínima, máxima verosimilitud) para la elección de la hipótesis filogenética considerada más probable. Igualmente básica es la distinción entre métodos discretos, que utilizan los datos obtenidos directamente, y métodos basados en distancia, que transforman dichos datos en una matriz donde aparecen cuantificadas las diferencias entre todos los pares de táxones estudiados para el conjunto de datos analizado y sobre la que se dirige después el proceso de búsqueda.

La vigencia de éstas y otras aproximaciones [p. ej. la reciente aplicación de métodos bayesianos, v. HUELSENBECK & *al.* 2001 y *Syst. Biol.* 51{5} {2002}], sin que estén perfectamente claras las fortalezas y debilidades de cada una de ellas, mantiene el acalorado debate acerca de la superioridad de unas y otras. Sin embargo, el hecho de defender con mayor o menor vehemencia las bondades de un método en particular no debería llevar a evitar, en la práctica y cuando sea posible, la aplicación de otros, puesto que existen motivos suficientes para considerar razonables las discrepancias que se mantienen en este campo. Dejando a un lado disquisiciones epistemológicas, si lo que se persigue, en verdad, es el conocimiento de las relaciones filogenéticas, resulta como mínimo



recomendable no desechar *a priori* cualquiera de las herramientas de análisis disponibles.

Así las cosas, el empleo de diferentes aproximaciones metodológicas para el análisis de un mismo conjunto de datos puede, al menos, ayudar a detectar sus propias inconsistencias, que afectan al resultado y que se manifiestan en distintas situaciones; por ejemplo, en el caso de máxima parsimonia, cuando la tasa de sustitución en las secuencias es demasiado heterogénea entre las líneas evolutivas (FELSENSTEIN, 1978; 1983; DE BRY, 1992; HASEGAWA & FUJIMURA, 1993; KUHNER & FELSENSTEIN, 1994; HUELSENBECK, 1995) o, en el caso de cualquiera de los métodos basados en un criterio de optimización, cuando el número de secuencias es relativamente elevado respecto a su longitud (NEI & *al.*, 1998; TAKAHASHI & NEI, 2000). Teniendo esto presente y apelando al principio de congruencia (MICKEVICH, 1978, MIYAMOTO & CRACRAFT, 1991, MIYAMOTO & FITCH, 1995), aquellos grupos obtenidos a través de distintas aproximaciones podrán ser considerados más consistentes frente a los que no resultan de todas ellas.

Por otra parte, dado que la realidad suele suministrar datos conflictivos para establecer relaciones evolutivas, resulta indicado profundizar en el conocimiento y tratamiento de los datos, de modo que se pueda hacer un uso más efectivo de los mismos e intentar incrementar así la exactitud (o la confianza, ya que es imposible conocer con certeza la filogenia en un caso real) de nuestra estimación. Tal es el cometido del pesaje de caracteres, de los métodos que incorporan modelos evolutivos explícitos de sustitución y de los análisis de congruencia entre distintos conjuntos de datos. La sola evaluación de dichos modelos evolutivos y del conflicto entre conjuntos definidos de datos facilita en ocasiones el conocimiento de algunos de los procesos que han gobernado la evolución de las secuencias que se analizan. Finalmente, a la luz de las características de los datos es posible valorar con mayor fundamento los resultados de los análisis.

Todas las consideraciones anteriores quedan reflejadas en la estrategia metodológica seguida en los sucesivos apartados. La aplicación de máxima verosimilitud como criterio objetivo, aunque se intentó, fue descartada debido a los intratables tiempos de procesado requeridos para los análisis.



### 3.2.9.

## Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia

Los conjuntos de datos resultantes de los diferentes tratamientos de las regiones o posiciones con inserciones/delecciones (pág. 50) se sometieron a los mismos análisis que se expusieron al tratar los caracteres morfológicos bajo el criterio de parsimonia (pág. 32).

### 3.2.10.

## Evaluación de modelos evolutivos de sustitución

Las asunciones sobre mecanismos evolutivos que son adoptadas por los modelos de sustitución mostrados en la tabla 4.6 se evaluaron mediante tests de bondad de ajuste basados en la razón de verosimilitudes (GOLDMAN, 1993a; HUELSENBECK & RANNALA, 1997). El estadístico de bondad de ajuste empleado ( $\partial$ ) está definido por la expresión:

$$\partial = -2 (\ln L_1 - \ln L_0)$$

en la que  $L_0$  es la máxima verosimilitud bajo el modelo que impone más restricciones respecto al modelo más general y  $L_1$  es la máxima verosimilitud bajo el modelo menos restrictivo. La distribución de probabilidad asociada con  $\partial$  se asume aproximada a una  $\chi^2$  con  $\mu$  grados de libertad, siendo  $\mu$  la diferencia entre el número de parámetros que varían libremente en los dos modelos. La aproximación a una distribución  $\chi^2$  es posible debido a que cada par de modelos evaluado constituyen uno un caso especial del otro.

La evaluación se hizo sobre uno de los árboles obtenidos tras el análisis con parsimonia y sin pesaje diferencial de los datos (designado en adelante como MP107), árbol cuya topología es coincidente con la obtenida después del pesaje sucesivo de caracteres y subsiguiente análisis con el mismo criterio (fig. 4.5).

Si bien ha sido indicado que la estimación de algunos parámetros implicados en los modelos, tales como la proporción entre transiciones y transversiones y el valor  $\alpha$  de la distribución gamma a que se aproxima la variación ligada a la posición en la tasa de sustitución, depende de la

topología (SULLIVAN & *al.*, 1996), se ha demostrado también que dichos parámetros se mantienen estables sobre topologías no excesivamente desviantes (YANG, 1994; YANG & *al.*, 1994). Teniendo en cuenta que las topologías obtenidas en el análisis con parsimonia mencionado más arriba no pueden ser calificadas de este modo (hay que hacer notar que las conclusiones de Sullivan & *al.* estuvieron basadas esencialmente en árboles aleatorios), la elección entre estas topologías para evaluar el modelo evolutivo y estimar sus parámetros no resulta trascendente. Aún así, se comprobó que los valores estimados del parámetro  $\alpha$  y de la matriz de sustituciones sobre la topología para la que se evaluaron los modelos, no eran aparentemente dispares respecto a los estimados sobre aquellas topologías obtenidas con otros algoritmos y criterio de optimización distinto de parsimonia (pág. 97) y que los nuevos valores no provocaban efecto alguno sobre los resultados de dichos análisis.

### 3.2.11.

#### Variación de la tasa de sustitución entre las líneas evolutivas

La exactitud de los métodos de reconstrucción filogenética se ve afectada cuando la tasa de sustitución no es significativamente homogénea entre las líneas que componen la historia evolutiva que se pretende desvelar (HILLIS & *al.*, 1994). La mayoría de estos métodos, entre los que se cuentan los aquí aplicados, toman como asunción dicho extremo, por lo que resulta importante saber si ésta es violada o no por los datos en uso.

En el presente estudio se han utilizado dos aproximaciones estadísticas independientes para la comparación de las tasas de sustitución. La primera de ellas hace uso del test de bondad de ajuste basado en la razón de verosimilitudes expuesto en el apartado anterior (v. además MUSE & WEIR, 1992). En este caso, las verosimilitudes comparadas — para cada topología obtenida con los diferentes métodos de reconstrucción filogenética empleados — son las correspondientes a las versiones sin asumir y asumiendo reloj molecular (tasa de sustitución constante; ZUCKERKANDL & PAULING, 1965) del modelo evolutivo que mostró el mejor

ajuste (REV+I). Puesto que se trata de versiones del mismo modelo, es razonable asumir que el estadístico  $\hat{d}$  siga una distribución  $\chi^2$  con  $N-2$  grados de libertad, siendo  $N$  el número de secuencias. Si el valor de máxima verosimilitud sin restricción de reloj molecular es significativamente mayor que el valor obtenido con el modelo restringido, la hipótesis nula que postula una tasa homogénea para todas las líneas evolutivas es rechazada.

La segunda aproximación, centrada en el test de TAJIMA [1993], no depende de una topología previa ni de modelo evolutivo alguno y se basa en la proposición de que las diferencias en nucleótidos entre una secuencia considerada como grupo externo y dos secuencias con mayor proximidad filogenética respecto de aquella han de ser equivalentes. Esta proposición, planteada como hipótesis nula, es evaluada mediante un simple test de  $\chi^2$  con un grado de libertad (método 1D) o, si las diferencias se clasifican antes en transiciones y transversiones (método 2D), con dos grados de libertad. Ambos métodos (1D y 2D) se aplicaron con una larga serie de tests (506 en total) a otros tantos pares de secuencias representantes de especies individuales o de parejas de especies de reconocida y estrecha proximidad (*T. passerina*-*T. salsa*, *T. aucheri*-*T. cilicica*, *T. mesopotamica*-*T. gussonei*, *T. tartonraira*-*T. velutina*, *T. lythroides*-*T. lanuginosa*, *T. coridifolia*-*T. procumbens*-*T. coridifolia* subsp. *dendrobryum*). Como grupo externo se utilizaron dos secuencias en tandas independientes: *Daphne oleoides* y *Diarthron antoninae*. En todos se eliminaron aquellos caracteres con *gaps* en, al menos, uno de los táxones comparados.

La combinación de las dos aproximaciones anteriores puede resultar informativa, no sólo por la utilidad de tener resultados a través de tests independientes, cada uno con su propio talón de Aquiles (TAJIMA, 1993; SANDERSON, 1998; SORHANNUS & BELL, 1999), sino también por proporcionar información, en cierto modo, complementaria. Así, mientras que el test basado en la razón de verosimilitudes es de carácter global —considera simultáneamente todas las líneas evolutivas definidas en una topología— el test de Tajima permite evaluaciones restringidas, tantas como pares de especies sean posibles.



### 3.2.12.

#### Saturación de cambios en las secuencias

La acumulación de sustituciones a lo largo de la historia evolutiva de las secuencias puede llevar a la saturación a un número creciente de sus posiciones, de manera que a partir de entonces sucesivos cambios enmascararán los precedentes, dando lugar con toda probabilidad a convergencias y paralelismos que podrán afectar negativamente a la estimación de la filogenia.

Un modo de detectar la existencia de saturación es comparar el número de cambios asociado a una hipótesis filogenética de máxima parsimonia, que, por definición, constituye una estimación mínima del cambio evolutivo, con las distancias corregidas a través de algún modelo de sustitución que sí tiene en cuenta la ocurrencia de sustituciones múltiples (PHILIPPE & *al.*, 1994; PAGE & HOLMES, 1998). En este caso se calculó el número de cambios entre cada par de táxones a partir del cladograma MP107 y los valores obtenidos se compararon mediante un diagrama de dispersión con las distancias resultantes de aplicar el modelo REV+ $\Gamma$ .

### 3.2.13.

#### Reconstrucción filogenética con el método de *neighbor-joining*

Con el método de *neighbor-joining* (SAITOU & NEI, 1987) se llevaron a cabo tres análisis filogenéticos independientes basados en otras tantas matrices de distancias calculadas según los modelos evolutivos JC, REV+ $\Gamma$  y la transformación LogDet, respectivamente. Las estimaciones con el modelo REV+ $\Gamma$  se hicieron mediante máxima verosimilitud, fijando en todas las comparaciones los valores de los parámetros (matriz de sustitución y  $\alpha$ ) estimados sobre la topología de parsimonia (pág. 55). El uso de una misma matriz de sustitución para todos los cálculos de distancias da lugar a estimaciones con menor varianza que si se estima y se aplica sobre cada par de secuencias comparadas (SWOFFORD & *al.*, 1996; WADDEL & STEEL, 1997), de aquí la anterior elección.

La utilización del modelo REV+ $\Gamma$  viene justificada por ser el que,

tras una evaluación estadística (máxima verosimilitud), demostró el mejor ajuste a los datos (tab. 4.6). No obstante, hay que advertir que la aplicación de un modelo complejo como éste, rico en parámetros, incrementa la varianza de las distancias estimadas, particularmente cuando el número de nucleótidos no es elevado, y puede afectar a la eficacia del método de inferencia filogenética (SWOFFORD & *al.*, 1996; HUELSENBECK & RANNALA, 1997; TAKAHASI & NEI, 2000). Por esta razón se decidió hacer uso también de un modelo simple como el de Jukes-Cantor, aún consciente del mayor riesgo de cometer un error de tipo sistemático al adoptar un número superior de asunciones. Esta misma razón es aducida por TAKAHASI & NEI (2000) para preferir la utilización de modelos simples, e incluso de las distancias sin corregir (distancia  $p$ ), en la búsqueda de la topología más probable.

La estimación de las distancias mediante la transformación LogDet puede resultar apropiada en este caso, dado que se ha detectado una variación significativa de la composición en bases entre algunos de los táxones estudiados (pág. 84). Este método se muestra robusto frente a desviaciones en la composición resultantes de un proceso de sustitución heterogéneo en la historia evolutiva de las secuencias, al contrario que los otros modelos aplicados, cuya máxima efectividad requiere asumir homogeneidad en la dinámica de sustitución.

En el presente análisis, como en cualquiera de los que se incorporó algún modelo para tener en cuenta la posibilidad de sustituciones múltiples, se excluyeron todas las posiciones del gen 5.8S que se observaron idénticas en todas las secuencias estudiadas. En una secuencia codificante como ésta, cuya tasa evolutiva es marcadamente inferior que la de los ITS, dichas posiciones se asume que son invariables, es decir, que no han sido afectadas por sustituciones múltiples, por lo que su inclusión carece de justificación si el modelo no asume una determinada proporción de posiciones de este tipo. Cuando en los datos la proporción de sitios invariables se supone o estima relativamente alta es importante evitar dichos sitios, si pueden ser reconocidos, o incluirlos en el modelo estimando su proporción, pues de lo contrario la estimación de las distancias y el resultado del análisis filogenético pueden verse considerablemente sesgados (HASEGAWA & FUJIWARA, 1993; LOCKHART & *al.*, 1996; WADDELL & STEEL, 1997).

El apoyo de los distintos clados se estimó con 10.000 remuestreos *bootstrap* utilizando *neighbor-joining* como algoritmo de búsqueda.

### 3.2.14.

#### Reconstrucción filogenética con el criterio de evolución mínima

Aplicando el criterio de evolución mínima (SAITOU & IMANISHI, 1989; RZHETSKY & NEI, 1992) se llevaron a cabo 100 búsquedas heurísticas partiendo de árboles obtenidos mediante *neighbor-joining* y con TBR como algoritmo de reorganización. Las distancias se calcularon teniendo en cuenta la ocurrencia probable de sustituciones múltiples con los mismos modelos de sustitución utilizados en el análisis anterior, de manera que pudieran observarse las posibles diferencias derivadas de utilizar un método de búsqueda extensiva con un criterio de optimización (evolución mínima) frente a la aplicación única de un algoritmo simple de búsqueda como *neighbor-joining*.

Como en los análisis anteriores se aplicó también remuestreo estadístico *bootstrap* (*fast bootstrap*), con 10.000 repeticiones, para la obtención de valores de apoyo relativo a los nodos del árbol.

### 3.2.15.

#### Evaluación estadística de la hipótesis de radiación para la diversificación de *Thymelaea* y comparación de topologías

Ante las sospechas, inducidas por los resultados de los análisis, de una posible diversificación rápida o simultánea (radiación), ocurrida tras la diferenciación de *Thymelaea* como línea evolutiva independiente, se decidió buscar algún criterio estadístico con el que evaluar esta hipótesis.

HILLIS (1991) y HILLIS & HUELSENBECK (1992) sugirieron como posible utilidad del estadístico  $g^1$  la de prevenir ante un grado de resolución de la filogenia que supere al que es posible obtener con la señal filogenética contenida en los datos ("*reading beyond the signal*"). Esta capacidad ha sido aprovechada por JACKMAN & *al.* (1999) para testar la diferenciación contemporánea de varias líneas evolutivas, al considerar que la distribución de los caracteres informativos en una politomía ("*hard polytomy*", *sensu* MADDISON, 1989) debe ser aleatoria respecto a los táxones



integrados en ella. El razonamiento en que se basa la aplicación del siguiente test sostiene, en resumen, que si la estructura de los datos que definen los nodos integrantes de la supuesta radiación o rápido encadenamiento de divergencias no es significativamente distinta de la asociada a su distribución aleatoria, no existe justificación para cualquier resolución posible, más allá de una politomía, de las relaciones entre los clados implicados y, por tanto, la hipótesis de una cladogénesis simultánea encontraría así un apoyo estadístico frente a la posibilidad de que el resultado sea un mero artefacto provocado por un análisis inapropiado de los datos. El procedimiento seguido para evaluar este punto lleva a calcular el valor del estadístico  $g1$  prescindiendo en primer lugar de todas las secuencias que integran cada clado considerado suficientemente robusto (*bootstrap*  $\geq 70$  %) excepto una de ellas, que actúa de representante del clado y que es seleccionada al azar (fig. 4.5); en pasos sucesivos y en orden decreciente de apoyo se va prescindiendo de nuevas secuencias y se determina igualmente el valor de  $g1$  para los datos que restan. De esta manera se va obteniendo una indicación de la señal filogenética que avala las relaciones entre los clados que se mantienen en cada análisis sucesivo. Cuando el valor de  $g1$  no es significativamente diferente del que se espera para una distribución aleatoria de los datos, se considera que no es posible resolver las relaciones entre los clados que representan las secuencias evaluadas y que, entonces, una politomía es la única configuración justificable de sus relaciones filogenéticas con los datos en uso.

El test se llevó a cabo con el programa PAUP sobre una muestra de 100.000 árboles aleatorios y teniendo en cuenta sólo los caracteres variables. Los valores críticos que toma  $g1$  se obtuvieron de HILLIS & HUELSENBECK (1992; tab. 2).

Como complemento del test anterior se llevó a cabo una comparación de topologías en términos de máxima verosimilitud según el test propuesto por SHIMODAIRA & HASEGAWA (1999; test SH en GOLDMAN & *al.*, 2000). El conjunto de topologías comparadas incluye las 168 encontradas igualmente posibles bajo el criterio de máxima parsimonia, las seis obtenidas con cada uno de los métodos aplicados basados en distancias y la topología consenso de *bootstrap* obtenida con el criterio de parsimonia para un valor de frecuencia  $\geq 27,5$  % (*majority rule* 27,5), la cual ignora los clados que, según el test que utiliza  $g1$ , no están respaldados por señal filogenética alguna (v. fig. 4.5). Esta última topología representa la hipótesis de diferenciación simultánea de los clados basales de

*Thymelaea*. La inclusión en la comparación de los árboles obtenidos a través de las distintas aproximaciones metodológicas se aprovecha para llevar a cabo una evaluación estadística de su poder explicativo respecto a los datos de partida y determinar si las diferencias encontradas están dentro de lo que se puede esperar debido al error estocástico que conllevan. La hipótesis nula que se pretende evaluar sostiene, por tanto, que todas las topologías comparadas constituyen explicaciones igualmente adecuadas de los datos que las respaldan.

El test se llevó a cabo con el programa PAUP, asumiendo un modelo REV+ $\Gamma$  de sustitución —el que mostró el mejor ajuste a los datos (tab.4.6)— y aplicando el método RELL (KISHINO & *al.*, 1990) para calcular las verosimilitudes de las topologías comparadas respecto a cada réplica de datos obtenida en 1000 procesos de remuestreo *bootstrap*.

### 3.2.16.

#### Relaciones filogenéticas de *Thymelaea* con otros géneros próximos

Dado que la región de los ITS manifestó en este caso suficiente capacidad para resolver relaciones a nivel genérico y con la motivación del trabajo recientemente aparecido de VAN DER BANK & *al.* (2002; v. además la pág. 13), se incorporó una secuencia más correspondiente a *Gnidia carinata*, cuya posición, suficientemente alejada respecto al resto de los táxones, se aprovechó para investigar cuál es el grupo hermano de *Thymelaea*. En esta ocasión se realizaron idénticos análisis filogenéticos a los ya expuestos bajo el criterio de parsimonia (pág.55) y con el método de *neighbor-joining* (pág.58), asumiendo los mismos modelos de sustitución que entonces.

### 3.3.

## **Análisis del conflicto entre los conjuntos de datos utilizados**

### 3.3.1.

#### **Introducción**

La disponibilidad de fuentes heterogéneas de información para la reconstrucción de relaciones evolutivas lleva a la consideración de cómo sacar el mejor partido posible a todas y cada una de ellas. Este interrogante ha dado lugar a un intenso debate sobre su mejor respuesta, el cual mantiene por el momento tres posiciones diferenciadas (revisadas en DE QUEIROZ & *al.*, 1995 y HUELSENBECK & *al.*, 1996). La primera aboga por el análisis simultáneo de toda la información disponible (KLUGE, 1989), la segunda defiende el análisis independiente de cada conjunto de datos y la posterior comparación de resultados (MIYAMOTO & FITCH, 1995), la tercera, por fin, prefiere someter los conjuntos de datos a una evaluación estadística de homogeneidad y decidir el análisis separado o combinado en función del resultado (BULL & *al.*, 1993; DE QUEIROZ, 1993).

El análisis conjunto de todos los caracteres disponibles es justificado por la reducción relativa del error de muestreo que conlleva y por el mayor poder descriptivo y explicativo que aporta un mayor número de datos, aduciéndose además que la división de los caracteres está fundada en criterios artificiales y, por tanto, deja sin sentido la comparación de resultados obtenidos a través de análisis independientes (KLUGE & WOLF, 1993). La artificialidad referida, no obstante, es difícil de sostener con sólo atender, por ejemplo, a las discrepancias comprobadas en los casos de introgresión de ADN cloroplástico no seguida por secuencias de ADN nuclear (RIESEBERG & SOLTIS, 1991). Por otra parte, es reconocido que, cuando los conjuntos de datos tienen tras de sí una misma historia evolutiva, el análisis combinado tenderá a aumentar la resolución y el apoyo de los clados, proporcionando la mejor estimación de la filogenia (BARRET & *al.*, 1991). Sin embargo, la conflictividad resultante de combinar matrices de datos que apoyan diferentes genealogías puede disminuir o confundir la señal filogenética de cada una, dando lugar a relaciones que tienen poco o nada que ver con las inferidas al tratar los conjuntos de datos por separado. Ahora bien, tal discrepancia entre las hipótesis filogenéticas obtenidas con cada grupo de caracteres puede no estar reflejando



procesos evolutivos efectivamente distintos (v. WENDEL & DOYLE, 1998), sino más bien el efecto de trabajar con muestras finitas (error de muestreo), la propia variación estocástica de los sucesos evolutivos o alguna limitación del método de análisis filogenético empleado.

La exposición precedente y la metodología seguida hasta el momento dejan ver que el análisis combinado (*sensu* KLUGE, 1989) no es la aproximación preferida en este trabajo, aun cuando se considera que ésta es, posiblemente, la más objetiva. En el mismo párrafo anterior se esbozan algunas cuestiones [¿forman las matrices de datos un conjunto significativamente heterogéneo?; en caso afirmativo: ¿a qué es debida la heterogeneidad encontrada?] para cuya respuesta conviene una serie de pasos metodológicos que corresponden, más ajustadamente, a un planteamiento condicional. Dicha secuencia metodológica parte del análisis por separado de cada conjunto de datos y sigue, en todo caso, la línea de pensamiento expresada por JOHNSON & SOLTIS (1998), que propone la exploración de los datos a través de tests estadísticos y la consideración de toda la información disponible sobre los mismos y sobre los propios táxones como medio de tomar decisiones más informadas y justificadas acerca del mejor modo de tratar conjuntos de datos independientes.

### 3.3.2. Índices y tests estadísticos

#### 3.3.2.1. Congruencia entre topologías

Aunque la simple inspección de las topologías obtenidas con los caracteres morfológicos por un lado y con los caracteres moleculares por otro permite advertir su incongruencia, es deseable tener una medida cuantitativa del grado en que ésta se presenta y determinar si la similitud encontrada podría esperarse simplemente por azar. De esta manera se percibe la magnitud de la diferencia existente entre los árboles comparados. Las medidas utilizadas con este fin son la distancia entre particiones (*partition metric*, PM) (ROBINSON & FOULDS, 1981), que calcula el número de reorganizaciones de las ramas de un árbol dado necesarias para transformarlo en el árbol con el que se compara, y el valor

de coincidencia máxima [*greatest agreement subtree*, D1] (KUBICKA & *al.*, 1995), que mide el número mínimo de táxones que hay que eliminar en uno de dos árboles comparados para hacerlos coincidentes.

Con anterioridad a la aplicación de los tests, y puesto que los táxones utilizados para la obtención de cada conjunto de datos no son los mismos, se repitieron los análisis filogenéticos con el criterio de parsimonia considerando sólo aquellos táxones comunes a ambas matrices. Éste es un modo de comprobar si su exclusión da lugar a topologías discordantes con las que resultaron al tener en cuenta todos ellos. Con los datos morfológicos se obtuvieron los mismos nueve árboles que en el análisis con la matriz completa; con las secuencias se obtuvieron diez árboles cuyo consenso fue prácticamente idéntico a uno de los 168 árboles resultantes al incluir todos los táxones. De lo anterior se deduce que la exclusión practicada no afecta a la estimación de las relaciones filogenéticas, aunque sí parece que altera el balance de homoplasia asociado a dicha estimación en el caso de los caracteres moleculares.

Los 19 árboles a que dieron lugar los análisis con cada matriz de datos (nueve para los caracteres morfológicos y diez para los moleculares) se compararon calculando valores de distancia PM y de coincidencia máxima D1 entre todos ellos con el programa PAUP (aquí con la designación de *symmetrical difference* y *agreement D1* respectivamente).

La posibilidad de que la similitud observada entre los árboles obtenidos fuera debida al azar se evaluó comparando los valores PM y D1 anteriores con los esperados para árboles aleatorios (PENNY & HENDY, 1985). Dichos árboles resultaron de analizar, con el criterio de parsimonia, matrices de datos aleatorizadas para cada carácter mediante permutaciones de sus estados. El procedimiento seguido para obtener las distribuciones nulas de probabilidad de los valores PM y D1 es el ofrecido por JOHNSON & SOLTIS (1998), indicado a continuación. Con el programa MacClade (opción "*SHUFFLE*") se generaron cinco matrices aleatorizadas por conjunto de datos, tras lo cual se construyó con cada grupo una matriz única que se sometió, utilizando el programa PAUP, a un proceso de remuestreo *jackknife* (opción "*fast*") con 1000 repeticiones y excluyendo un 80 % de los caracteres cada vez. Finalmente, se calcularon los valores PM y D1 para las comparaciones entre árboles procedentes de cada conjunto de datos.

### 3.3.2.2.

#### Homogeneidad de los datos

La comparación de topologías constituye una manera indirecta y no concluyente de comprobar y medir la heterogeneidad presente en una matriz combinada de caracteres por lo que se refiere a las relaciones filogenéticas que éstos apoyan. Un método complementario y más directo de evaluar este punto es llevar a cabo un test estadístico planteando como hipótesis nula que los caracteres se distribuyen aleatoriamente (homogéneamente) entre los conjuntos de datos respecto a la información filogenética que contienen. El test aplicado que incorpora esta lógica es el propuesto por FARRIS & al. (1995), basado aquí en el índice de incongruencia  $I_{MF}$  (MICKEVICH & FARRIS, 1981). Dicho test se encuentra implementado bajo la denominación de *partition homogeneity test* en el programa PAUP, con el cual se llevó a cabo. El procedimiento es el siguiente: se calcula la distancia existente (definida por el índice  $I_{MF}$ ) entre un número suficientemente alto de particiones aleatorias de la matriz combinada, las cuales son del mismo tamaño que los dos conjuntos de datos comparados. Cuando al menos el 95 % de todas las particiones mantiene una distancia menor o igual a la de los conjuntos de datos originales, éstos se consideran significativamente heterogéneos ( $P \leq 0,05$ ). La rutina seguida para la aplicación del test consistió en efectuar 500 particiones aleatorias para cada conjunto de datos y las correspondientes búsquedas heurísticas con incorporación de táxones al azar, TBR como algoritmo de reorganización y un máximo de 2000 árboles retenidos por búsqueda.

Como prueba adicional para evaluar la homogeneidad de los datos se llevó a cabo otro test estadístico (también con el programa PAUP) basado en una medida comparativa distinta a la utilizada por el test que se acaba de exponer. Esta es la prueba de rangos con signo de Wilcoxon (SIEGEL, 1956; SOKAL & ROHLF, 1981), aplicada según sugiere TEMPLETON (1983) para conocer si un conjunto o partición de datos presta un apoyo significativamente menor a una topología alternativa (obtenida con otro conjunto o partición de datos) respecto al que corresponde a la topología de máxima parsimonia generada a partir de esos mismos datos. Precisando más, la hipótesis nula que se evalúa sostiene que el incremento en pasos requerido para algunos caracteres por la topología alternativa no es significativamente mayor que el descenso en el número de pasos requerido para otros. El razonamiento en que se basa esta hipótesis es que en una topología alternativa a la de máxima parsimonia para



un conjunto dado de caracteres, algunos de éstos verán incrementado el número de pasos necesario para adaptarse a ella, mientras que otros lo verán reducido, de manera que si el balance en el número de pasos no es significativo, ambas topologías se reconocen estadísticamente igual de apoyadas por el conjunto de datos considerado. Comprobando dicho extremo para los dos grupos de caracteres, se puede conocer si éstos constituyen un conjunto filogenéticamente homogéneo. Es necesario aclarar, no obstante, que este tipo de comparación se ve afectada por la presencia de nodos débilmente apoyados, lo que puede dar lugar a significaciones injustificadamente elevadas y, por tanto, a conclusiones de conflicto erróneas (MASON-GAMER & KELLOG, 1996). Esta observación tiene especial relevancia en el presente caso, ya que dichos nodos son abundantes, particularmente en las topologías basadas en los caracteres morfológicos. Por esta razón las comparaciones se limitaron a aquellos clados que gozaron de valores *bootstrap* suficientemente altos (cf. HILLIS & BULL, 1993; MASON-GAMER & KELLOG, 1996), utilizando para ello los árboles de consenso "*majority rule 70 %*". Aplicando este criterio, los caracteres morfológicos presentan una topología completamente irresoluta, sin embargo y aprovechando que este valor no deja de ser algo arbitrario, se juzgó interesante considerar los resultados del análisis tras el pesaje sucesivo de caracteres e incluir en la comparación el único clado que presenta un valor de apoyo superior a 70 % y es a la vez discrepante con las topologías generadas a partir de los datos moleculares; dicho clado engloba a todos los táxones incluidos en la sección *Chlamydanthus*.

### 3.4.

#### **Análisis filogenético basado en el combinado de caracteres morfológicos y moleculares**

Los índices y tests utilizados para cuantificar el conflicto existente entre la información filogenética aportada por los caracteres morfológicos y moleculares ponen de manifiesto que éste es elevado y estadísticamente significativo (pág. 117). Tal resultado recomienda mantener ambos conjuntos de datos separados y buscar explicaciones alternativas al error de muestreo para interpretar la heterogeneidad encontrada. Dejando la discusión de este punto para más adelante (pág.127), en la que se tendrá en cuenta información adicional, por el momento se ha considerado cuando menos instructivo realizar un análisis filogenético basado en la matriz combinada de caracteres. Tomando este análisis como una vía más de exploración del conflicto entre datos, se espera complementar así la discusión mencionada.

Los conjuntos de datos analizados hasta el momento de manera independiente se reunieron en una matriz única. Esta matriz contiene sólo los táxones comunes a ambos conjuntos (todos menos *Thymelaea gatte-fosei*, *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum*, *T. tinctoria* subsp. *nivalis* y *Daphne oleoides*), dejando además una única población por especie. Las poblaciones se eligieron al azar salvo en los casos de *T. sanamunda* y *T. pubescens*, para las cuales se excluyeron aquellas en las que se sospecha ha habido introgresión de *T. granatensis* (pág. 134). Como ya se indicó en otro apartado (pág. 65), los análisis efectuados por separado para las matrices reducidas arrojaron resultados prácticamente coincidentes respecto a las relaciones filogenéticas que se obtuvieron cuando se consideraron todos los táxones y poblaciones.

Igual que en los análisis filogenéticos precedentes, la señal filogenética de los datos reunidos se cuantificó a través del estadístico  $g_1$  para la distribución de 100.000 árboles aleatorios.

La matriz combinada se sometió al mismo análisis filogenético bajo el criterio de parsimonia e igual peso para todos los caracteres aplicado de manera independiente a cada conjunto de datos.

### 3.5.

## Asignación de una escala temporal a la diversificación de *Thymelaea*

La existencia de una tasa de sustitución no significativamente heterogénea entre la gran mayoría de las líneas evolutivas que componen la filogenia de *Thymelaea* (pág. 97) hace razonable considerar que la longitud de las ramas (número de sustituciones entre dos nodos) calculadas bajo la hipótesis del reloj molecular es proporcional al tiempo. La asignación de una escala temporal a la filogenia es interesante a la hora de emitir cualquier interpretación de tipo paleohistórico.

Hay que hacer notar, de todos modos, que la estimación de los tiempos de divergencia es un asunto sujeto a considerables controversias, debido fundamentalmente a los abultados errores a que suele dar lugar (HILLIS & *al.*, 1996; SANDERSON, 1998; SOLTIS & *al.*, 2002).

La longitud de las ramas bajo la hipótesis del reloj molecular se estimó mediante máxima verosimilitud con el modelo de sustitución preferido (REV+I<sup>1</sup>) y forzando una tasa de sustitución homogénea. Puesto que dichas estimaciones poseen una varianza, se calcularon también los errores asociados a cada estimación. Todos estos cálculos se llevaron a cabo con el programa PAML 3.0 (YANG, 2000), en el cual se introdujeron las topologías obtenidas con las diferentes metodologías empleadas, eliminando previamente las líneas que mostraron una desviación significativa en la tasa de sustitución respecto de aquellas para las que ésta manifestó ser estadísticamente homogénea: *T. sanamunda* A-*T. pubescens* subsp. *pubescens*, *T. antiatlantica*-*T. virgata* y *T. granatensis*-*T. sanamunda* B-*T. pubescens* subsp. *elliptica* (pág. 97).

Por otra parte, para conocer la temporalidad de los sucesos de divergencia es necesario calibrar el reloj molecular. La obtención de fechas de referencia parte de la existencia de un buen registro fósil o de eventos biogeográficos bien datados. En el caso de *Thymelaea* no se cuenta con fuentes útiles de este tipo. Entre los escasos fósiles conocidos de tímeleáceas no existe ninguno que se pueda atribuir indiscutiblemente a *Thymelaea*, por lo que resultan inapropiados para la datación ajustada de cualquier evento cladogenético dentro del género. Tampoco se conocen sucesos biogeográficos aplicables a este fin. Teniendo en cuenta tal vacío de información, se echó mano de las tasas de sustitución de los ITS estimadas con relativa fiabilidad para otros grupos de



angiospermas, en concreto de la tasa más baja ( $4,5 \times 10^{-10}$  sustituciones/sitio/año, SUH & *al.*, 1993), la más alta ( $2,3 \times 10^{-8}$  sustituciones/sitio/año, SCHMIDT & SCHILLING, 2000) y la correspondiente a *Gossypium* ( $5,3 \times 10^{-9}$  sustituciones/sitio/año, WENDEL & *al.*, 1995), género próximo a la familia *Thymelaeaceae* que cuenta con un espectro de tipos biológicos similar al de *Thymelaea*. De este modo se intenta obtener una datación aproximada, en lo posible, de algunos de los eventos de divergencia ocurridos a lo largo de la historia evolutiva del género en cuestión. Dicha datación sólo se ha llevado a cabo para nodos consistentes (presentes en todas las topologías) y robustos (con apoyos *bootstrap* altos).

Conociendo la tasa de sustitución existe también la posibilidad de estimar los tiempos de divergencia añadiendo a la estimación la distancia media (sustituciones/sitio) entre los táxones que confluyen en el nodo cuya datación se pretende obtener. La siguiente fórmula relaciona estos tres parámetros:  $T = K/2r$ , donde  $K$  es el número de sustituciones por sitio y  $r$  es la tasa de sustitución (GRAUR & LI, 2000). De esta manera resulta una estimación comparable a la que se obtuvo mediante una aproximación estadística con máxima verosimilitud forzando una tasa homogénea (reloj molecular). Las distancias utilizadas en estas estimaciones son las obtenidas bajo el modelo REV+Γ.

### 3.6.

## Síntesis paleogeográfica y paleoclimática del Mediterráneo desde el Mioceno (Neógeno)

La diversificación y, posiblemente, el origen de *Thymelaea* están estrechamente ligados a la evolución paleogeográfica y paleoclimática del Mediterráneo occidental, donde habita el 90 % de las especies conocidas en la actualidad. Los datos que conciernen a estos aspectos para el Neógeno, periodo en el que con mayor probabilidad aparece y diversifica *Thymelaea* (pág. 149), y el Cuaternario son relativamente abundantes y, aunque su interpretación es en muchos casos controvertida, permiten reconocer una serie de eventos de demostrada repercusión sobre la composición y distribución de la biota del territorio. Dichos eventos se exponen seguidamente con el propósito de servir a la discusión de la historia biogeográfica de *Thymelaea* (pág. 149). La propia secuencia histórica de los acontecimientos paleogeográficos y paleoclimáticos puede además contribuir a evaluar la hipótesis filogenética que se maneja.

En la figura 3.14 se muestra una escala de tiempo geológico en la que situar los distintos acontecimientos que se relatan a continuación.

La historia geológica de la cuenca mediterránea se caracteriza por su extrema complejidad, particularmente la que se refiere a la región occidental. Ello es en gran parte debido al intrincado sistema tectónico que resulta de la interacción de dos grandes placas continentales, la africana y la euroasiática, y un elevado número de microplacas asociadas. La cantidad, posición y fisiografía de las tierras emergidas ha ido experimentando, en consecuencia, profundos cambios, principalmente a lo largo del Terciario, hasta alcanzar una configuración muy similar a la actual hacia el final de este periodo. A todos estos cambios, de raíz geodinámica, hay que sumar los provocados por los factores climáticos y las oscilaciones del nivel del mar, de carácter fundamentalmente fisiográfico.

El desmantelamiento del antiguo mar de Tethys y su metamorfosis en el Mediterráneo alcanza un hito importante con el cierre del mar en su extremo oriental, tras la colisión de las placas arábiga y turca, hace aproximadamente 18 m.a. (Burdigaliense). Este hecho supuso la interrupción de la corriente oceánica circumequatorial, reinstaurada por un corto intervalo de tiempo hacia el Langhiense y vuelta a interrumpir, esta vez definitivamente, en el Serravaliense (Rögl, 1998). De manera más o

Fig. 3.14. Escala de tiempo geológico (millones de años) con los periodos, épocas y edades que se mencionan en el texto. Basada en BERGGREN Et al. (1995).

Periodo		Época		Edad	Tiempo
Cuaternario		Pleistoceno			1,8
Terciario	Neógeno	Plioceno			5,3
		Mioceno	Superior	Messiniense	7,1
				Tortonense	11,2
		Medio	Serravaliense	14,8	
			Langhiense	16,4	
		Inferior	Burdigaliense	20,6	
			Aquitaniense	23,8	

menos contemporánea al cierre oriental del Mediterráneo se forman, en el extremo opuesto, los fondos oceánicos correspondientes a las cuencas Provenzal y Argelina. Este suceso es acompañado, de un lado, por la disgregación del antiguo macizo Protoligur (ÁLVAREZ, 1976), constituido por parte de Cataluña, parte de Provenza, el bloque Corso-Sardo y, posiblemente, el norte de Menorca; y de otro por la deriva radial del dominio Sudsardo (SANZ DE GALDEANO, 1990): hacia el Oeste lo hacen las actuales Zonas Internas Bético-Rifeñas, hacia el Sur las Zonas Internas del Atlas Telliano y hacia el Sureste el macizo Calabro-Peloritano. El desplazamiento de las Zonas Internas Bético-Rifeñas cesa prácticamente en el Tortonense, pero se mantiene la compresión general entre África e Iberia, que irá elevando éstas, así como las denominadas Zonas Externas (cobertura sedimentaria de los márgenes sudibérico y norteafricano), configurándose poco a poco el macizo Bético-Rifeño. Este macizo permanece todavía separado de Iberia y África por los respectivos estrechos nordbético y sudrifeño. A la compresión señalada se añade, a finales del Tortonense, un levantamiento general del macizo, que provocó la retirada del mar de numerosas cuencas e interrumpió finalmente la comunicación marítima existente entre el Atlántico y el Mediterráneo por el estrecho nordbético, poniendo así en contacto este territorio con el antiguo solar ibérico (fig. 3.15) (CALVO & al., 1978; LÓPEZ MARTÍNEZ, 1989; SANZ DE GALDEANO, 1990; SANZ DE GALDEANO & VERA, 1991). La configuración orográfica de la península Ibérica al norte del territorio bético es ya muy similar a la actual (LÓPEZ MARTÍNEZ, 1989). Por otra parte, el tránsito marino a través del estrecho sudrifeño se va restringiendo progresi-



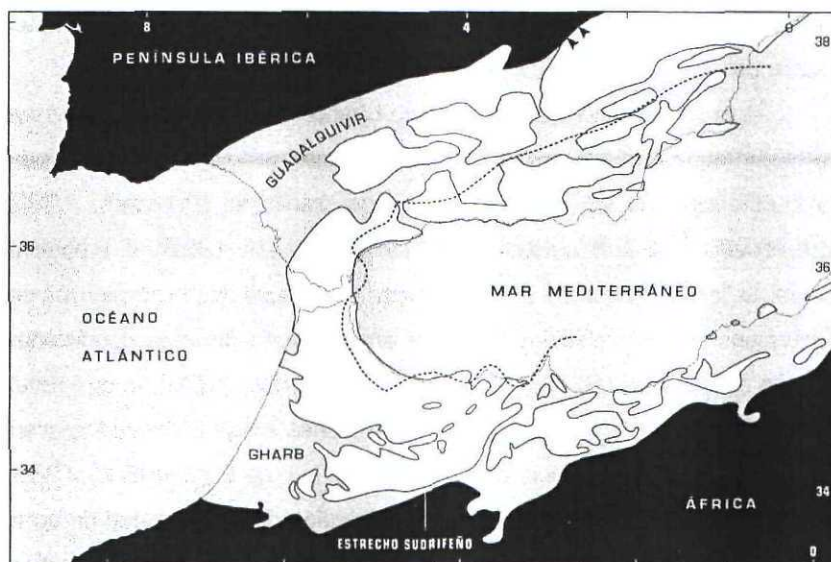


Fig. 3.15. Paleogeografía del macizo Bético-Rifeño hacia finales del Tortoniano, cuando se produce el cierre del estrecho nordbético (flechas). En negro basamento pre-Neógeno. La línea discontinua representa el contacto entre las Zonas Internas y Externas del macizo. Basado en RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ & SANZ DE GALDEANO (1992), MEGHRAOUI *et al.* (1996) y SORIA *et al.* (1999).

vamente hasta llegar al Messiniense, cuando se produce su definitiva interrupción (BENSON & *al.*, 1991; KRIJGSMAN & *al.*, 1999a; KRIJGSMAN & LANGEREIS, 2000). La edad de cierre de este estrecho a la circulación marina normal no está bien precisada, pero el hecho de que el primer intercambio registrado de mamíferos entre África y Europa esté datado en 6,1 m.a. (BENAMMI & *al.*, 1996) indica que en ese momento ya debía existir un puente continental entre tales territorios. El aislamiento del Mediterráneo a comienzos del Messiniense, unido al balance hídrico negativo de esta cuenca, provocó su desecación por un periodo de tiempo aproximado de 640.000 años (KRIJGSMAN & *al.*, 1999b), lo que a su vez dio lugar a la potente deposición de evaporitas característica de la popular "crisis de salinidad" del Messiniense (HSÜ & *al.*, 1973, 1977). Existe cierta controversia sobre la extensión que alcanzó dicha desecación (p. ej. STANLEY, 1990; BUSSON, 1990), pero sí está probado el establecimiento durante este periodo de conexiones terrestres entre regiones hoy separadas por el mar. Por ejemplo y además de la ya indicada entre África y la península Ibérica, entre el norte de África, Sicilia y la península Itálica, entre Córcega e Italia, entre las islas Baleares y la península Ibérica y entre Anatolia y la península Balcánica a través del Egeo (AZZAROLI & GUAZZONE, 1979; AGUSTÍ & GIBERT, 1981; STEINIGER & *al.*, 1985; AZZAROLI, 1990).

Este escenario geográfico excepcionalmente dinámico es el existente al tiempo que se producen importantes cambios climáticos, cuyo

rasgo más sobresaliente es el destierro generalizado de las condiciones (sub)tropicales-húmedas imperantes hasta el Mioceno Medio.

A la interrupción, en el extremo oriental del Tethys, de la corriente circumequatorial se atribuye un patente deterioro térmico en Europa y la contracción de las regiones climáticas tropicales (BERGGREN, 1982; ZACHARIASSE, 1983; STEININGER & *al.*, 1985; KENNETT, 1995). El empobrecimiento florístico iniciado en buena parte de Eurasia desde comienzos del Tortoniense se ha relacionado con el advenimiento de unas condiciones menos cálidas (VAN DER HAMMEN & *al.*, 1971; BENDA, 1973), lo que resulta coherente con la amplia extinción de táxones megatérmicos integrantes de la flora paleotropical detectada en el sur de Europa (SUC, 1986; SUC & BESSAIS, 1990; SUC & *al.*, 1992), la caída de la diversidad de corales en el Mediterráneo suroccidental (MARTÍN & *al.*, 1999), el cambio en la composición de la fauna mediterránea de foraminíferos (BIZON, 1985) y la extinción de táxones de afinidad tropical entre los moluscos continentales europeos (ESU, 1999). Numerosos datos paleontológicos coinciden en señalar que este descenso térmico generalizado estuvo acompañado por el establecimiento de condiciones más o menos áridas en el Mediterráneo y en Europa central y oriental (DOROFYEV, 1966; Benda, 1973; MÉON & *al.*, 1979; ANTUNES & PAIS, 1983; DEMARCO & *al.*, 1983; PALAMAREV, 1989; SUC & BESSAIS, 1990; AGUSTÍ, 1999; AGUSTÍ & *al.*, 1999). PALAMAREV (1989) reconoce como periodo xérico el Mioceno Superior y postula la existencia entonces de una zona climática semiárida entre 37° y 45° N, en la cual se desarrolló el elemento xerotérmico paleomediterráneo (no obstante, v. GREGOR, 1990). Por lo que se refiere a la península Ibérica, la aridez climática asentada en el Mioceno Superior es reflejada en el destacado carácter xerófilo de la flora procedente de los diferentes yacimientos neógenos que existen en dicho territorio (exceptuando los del Pirineo) (BARRÓN & *al.*, 1996). Asimismo, el registro paleontológico de mamíferos manifiesta aparentemente bien el abandono hacia mediados del Tortoniense (9-10 m.a.) de unas condiciones tropicales, cálidas y húmedas, en favor de unas condiciones más templadas y áridas (AGUSTÍ & *al.*, 1999). La xericidad del clima adquirida a comienzos del Mioceno Superior se mantiene durante todo este periodo en el Mediterráneo, incluyendo el Messiniense.

El Plioceno comienza con la apertura del estrecho de Gibraltar y la consiguiente transgresión marina en la cuenca mediterránea (CAMPILLO & *al.*, 1992). Extensos territorios pasan entonces a quedar sumergidos,



alcanzándose en poco tiempo la moderna configuración geográfica del Mediterráneo. Fuera de esta cuenca, los amplios y pronunciados golfos situados en la depresión del Guadalquivir y en la llanura del Gharb (Marruecos) se reducen notablemente gracias a la activa sedimentación marina (MEGHRAOUI & *al.*, 1996).

En el Plioceno se hace patente la regionalización del clima y se acentúa la estacionalidad, lo que es puesto en evidencia por la gradación latitudinal de la temperatura y la humedad (BESSAIS & CRAVATTE, 1988; BERTOLDI & *al.*, 1989; LEROY & DUPONT, 1994; SUC & *al.*, 1995, 1999; FAUQUETTE & *al.*, 1999) y por la disminución progresiva de las precipitaciones estivales (SUC, 1982, 1984), todo ello inferido a través de análisis paleopolínicos. Efectivamente, en el Mediterráneo occidental, estos análisis se muestran contundentes respecto a la existencia de dicho gradiente N-S, creciente para la temperatura y decreciente para la humedad, desde el inicio del Plioceno. La reconstrucción climática efectuada por FAUQUETTE & *al.*, (1999) presenta un clima cálido y húmedo en el norte y un clima cálido y seco en el sur, con unos valores de temperatura y humedad en general más extremados que los existentes en la actualidad. En el norte de África se establecen ambientes desérticos ya en el Plioceno inicial (MALAY, 1980; POKRAS & MIX, 1987). Por otra parte, se configura en esta época el clima mediterráneo moderno. Según SUC (1984) para ello fueron decisivos dos pasos: uno en el que quedó establecido el periodo de sequía estival, hace entre 3,2 y 2,8 m.a., y otro definido por una acentuación de la aridez que es situado en torno a los 2,3 m.a. No obstante, este modelo, construido esencialmente a partir de datos procedentes del Mediterráneo noroccidental, se vio que no es generalizable a otras regiones después de que BERTOLDI & *al.* (1989) encontraran en Calabria y Sicilia un espectro polínico que delata la existencia de un régimen climático típicamente mediterráneo hace al menos 4 m.a.

El final de este periodo está caracterizado por frecuentes oscilaciones climáticas, aunque se detecta, en todo caso, un agravamiento general de la aridez en conexión con el primer gran incremento del hielo polar que precede al Cuaternario (KEIGWIN & THUNELL, 1979).

Durante el Cuaternario la compresión activa a la que sigue sometida la península Ibérica continúa elevando los macizos montañosos. El glaciario y el periglaciario afecta a los de mayor altitud y más septentrionales. Durante los máximos glaciares, la retención de agua en los



casquetes de hielo del hemisferio norte provoca sucesivas regresiones marinas. Como consecuencia del descenso en el nivel del mar, que llega a ser de más de 100 m (FAIRBANKS, 1989), las islas del Egeo más próximas a los continentes quedan conectadas a ellos (GREUTER, 1979; BEERU & *al.*, 1996). Los golfos que encaran la depresión del Guadalquivir y la llanura del Gharb son reducidos hasta su configuración actual.

## **4. RESULTADOS**

## 4.1.

### Análisis filogenéticos basados en caracteres morfológicos

#### 4.1.1.

#### Análisis preliminar de los datos

En la tabla 4.1 se muestran algunas medidas estadísticas que resumen los principales rasgos de la matriz de datos utilizada en los análisis filogenéticos.

Veinticinco de los táxones estudiados se muestran polimórficos para alguno de los caracteres, lo que da lugar en la matriz a un 4,7 % de celdas con polimorfismos.

Dentro de *Thymelaea*, la divergencia absoluta calculada a partir de los caracteres considerados es nula en los siguientes grupos de especies: *T. lythroides*-*T. lanuginosa*-*T. gattefosei*, *T. tinctoria*-*T. ruizii*, *T. pubescens*-*T. sanamunda*, *T. aucheri*-*T. cilicica* y *T. passerina*-*T. salsa*-*T. gussonei*, y máxima (12) entre *T. virgata* y *T. broteriana* y entre *T. lanuginosa* y las especies anuales (*T. passerina*, *T. salsa* y *T. gussonei*). Por lo que respecta a la divergencia entre *Thymelaea* y los géneros situados en el grupo externo, el menor valor (5) se da entre *T. gattefosei* y *Daphne*, mientras

Nº total de caracteres	22
Nº de caracteres constantes (todos los táxones)	0
Nº de caracteres constantes ( <i>Thymelaea</i> )	6
Nº de caracteres variables e informativos (todos)	22
Nº de caracteres variables e informativos ( <i>Thymelaea</i> )	17
% de celdas con valor desconocido (?)	1,4
% de celdas con polimorfismos	4,7
Divergencia absoluta <i>Thymelaea</i> : rango	0-12
Divergencia absoluta <i>Thymelaea</i> : media $\pm$ d.t.	6,2 $\pm$ 2,7
Divergencia absoluta <i>Thymelaea</i> vs. gr. externo: rango	5-17
Divergencia absoluta <i>Thymelaea</i> vs. gr. externo: media $\pm$ d.t.	11,4 $\pm$ 2,3
g1	-0,3304

Tab. 4.1. Algunas medidas estadísticas que caracterizan los datos utilizados en los análisis filogenéticos basados en caracteres morfológicos.

d.t.: desviación típica. g1: estadístico de asimetría para la distribución de 100.000 árboles aleatorios.



que el mayor (17) lo alcanzan *T. tartonraira*, *T. subrepens*, *T. calycina* y *T. coridifolia* frente a *Diarthron antoninae*.

El valor negativo del estadístico  $g_1$  y la diferencia entre la mínima longitud obtenida para los árboles generados aleatoriamente (208) y la longitud del árbol de máxima parsimonia (116) se interpretan como señal filogenética contenida en los datos.

#### 4.1.2.

### Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia

Con igual peso para todos los caracteres, las búsquedas heurísticas bajo el criterio de máxima parsimonia encontraron un total de nueve árboles igualmente posibles con 116 pasos (índice de consistencia [CI]: 0,603; índice de retención [RI]: 0,788) (fig. 4.1). En todos ellos *Thymelaea* es reconocido como grupo monofilético, con un valor de apoyo bootstrap de 64,2 %. Salvo por las posiciones relativas de *T. procumbens*, *T. broteriana* y *T. calycina*, se mantiene siempre la misma topología del grupo interno. Las politomías de cuatro de los nodos son atribuidas a la ausencia de caracteres que las resuelvan. En el grupo externo las relaciones se manifiestan ambiguas sólo para *Diarthron antoninae* y *Stellera chamaejasme*. Por lo que se refiere a los grupos resueltos, únicamente seis están presentes en más del 50 % de las réplicas generadas al aplicar bootstrap: *D. cneorum*-*D. gnidium* (73,4 %), *T. lythroides*-*T. lanuginosa*-*T. gattefousei* (60,5 %), el identificado como sección *Ligia*: *T. cilicica*-*T. aucheri*-*T. passerina*-*T. salsa*-*T. gussonei*-*T. mesopotamica* (61,3 %), dentro de éste último: *T. cilicica*-*T. aucheri* (55 %) y el clado de las especies anuales: *T. passerina*-*T. salsa*-*T. gussonei*-*T. mesopotamica* (59,3 %) y el ya mencionado grupo que reúne a todos los táxones de *Thymelaea*.

El análisis con pesaje diferencial de caracteres dio lugar, tras una ronda de pesaje, a los mismos nueve árboles de máxima parsimonia que se obtuvieron al tratar aquellos con un peso uniforme. En este caso y al contrario de lo que suele ser habitual, el pesaje no incrementa la capacidad resolutoria de los datos, aunque sí consigue una mejora apreciable en el ajuste de éstos a las hipótesis filogenéticas resultantes; así se des-

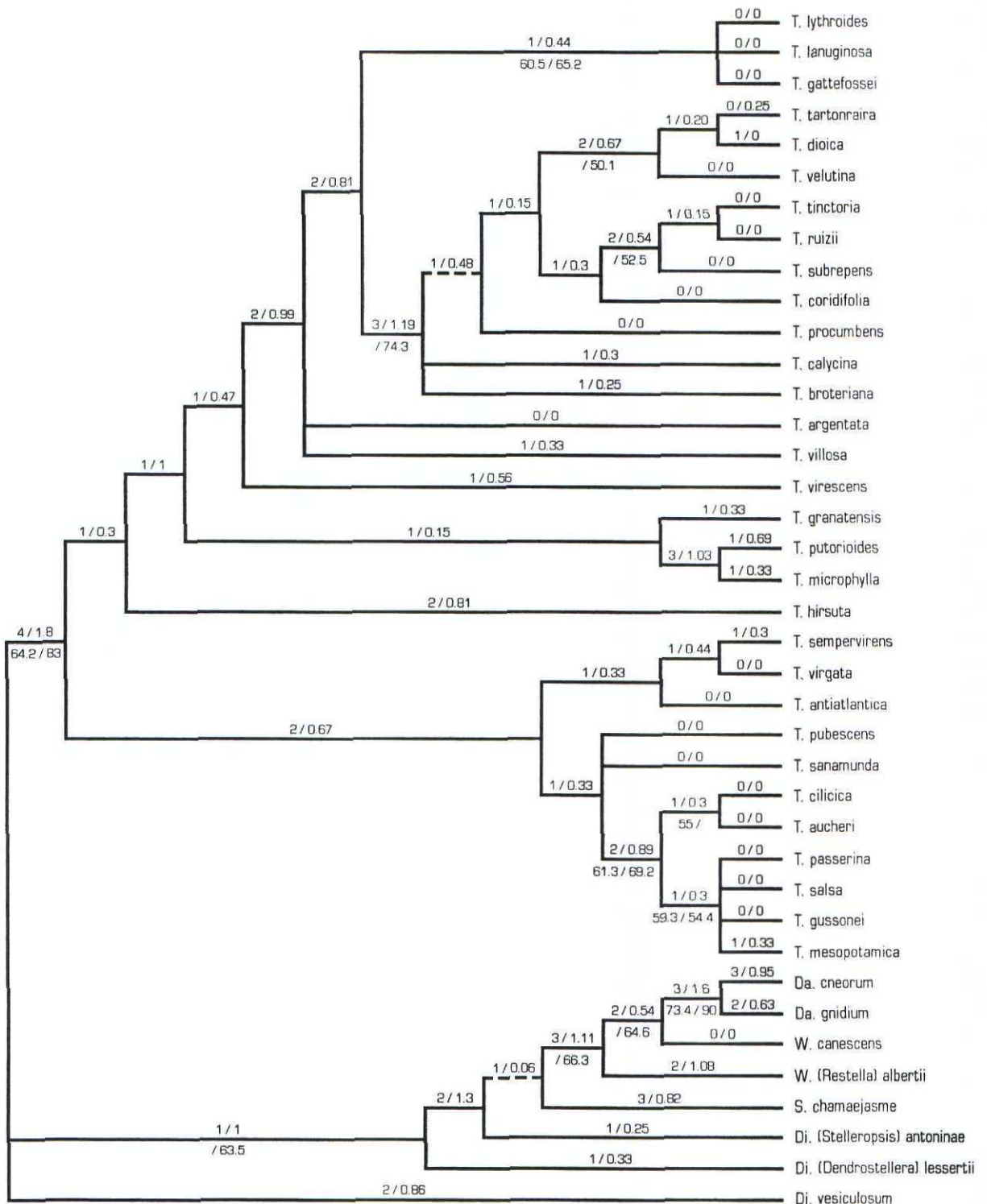


Fig. 4.1. Uno de los nueve árboles obtenidos al analizar los datos morfológicos con el criterio de parsimonia de Fitch. Con trazo discontinuo están señalados los clados que no aparecen en los árboles de consenso estricto resultantes de los análisis con igual peso para todos los caracteres y con pesaje por aproximaciones sucesivas. Sobre las ramas aparece indicada su longitud y debajo de ellas los valores *bootstrap*  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 1000 repeticiones); en ambos casos se han separado por una barra los valores correspondientes a los análisis con pesaje uniforme (izquierda) y diferencial (derecha). Manteniendo esta misma notación se indican a continuación los datos

prende de los nuevos valores que toman los índices de consistencia y de retención: CI= 0,712 y RI= 0,851. En la tabla 4.2 se muestran los pesos relativos asignados a cada carácter, así como otras medidas e índices que sirvieron para su cálculo sobre los árboles que resultaron del análisis con peso uniforme.

El mejor ajuste de los caracteres tras el pesaje tiene su repercusión en el apoyo relativo que ahora obtienen los clados. Se produce un

Carácter	Nº mín. cambios	Nº máx. cambios	Nº cambios en cladogramas	ci	ri	rc (ci x ri)	Peso final
1	2	14	5	0,400	0,750	0,300	0,300
2	1	19	2	0,500	0,944	0,472	0,472
3	5	20	10	0,500	0,667	0,333	0,333
4	1	18	5	0,200	0,765	0,153	0,153
5	1	6	2	0,500	0,800	0,400	0,400
6	4	11	6	0,667	0,714	0,476	0,476
7	3	6	3	1,000	1,000	1,000	1,000
8	7	14	9	0,778	0,714	0,556	0,556
9	2	20	5	0,400	0,833	0,333	0,333
10	1	5	4	0,250	0,250	0,062	0,062
11	3	18	5	0,600	0,867	0,520	0,520
12	2	20	5	0,400	0,833	0,333	0,333
13	1	8	1	1,000	1,000	1,000	1,000
15	5	10	8	0,625	0,400	0,250	0,250
16	4	8	6	0,667	0,500	0,333	0,333
17	4	10	6	0,667	0,667	0,444	0,444
18	8	22	8	1,000	1,000	1,000	1,000
19	1	7	1	1,000	1,000	1,000	1,000
20	3	4	3	1,000	1,000	1,000	1,000
21	3	10	6	0,500	0,571	0,286	0,28
23	6	21	12	0,500	0,600	0,300	0,300
24	3	16	4	0,750	0,923	0,692	0,692

Tab. 4.2. Ajuste de los caracteres a los nueve cladogramas obtenidos en el análisis con el criterio de parsimonia de Fitch, expresado como número de pasos, índices de consistencia (ci), de retención (ri) y de consistencia redimensionada (rc). Se muestran también los pesos relativos asignados (según el rc) tras ser estabilizados por pesaje sucesivo.

[Fig. 4.5 (cont.)] relativos a la longitud total de los árboles, el índice de consistencia y el índice de retención respectivos: L: 116; CI: 0,603; RI: 0,788 / L: 52,133; CI: 0,712; RI: 0,851.



aumento generalizado de éstos, con incrementos que superan con frecuencia el 15 % o más, como por ejemplo en el identificado con la sección *Chlamydanthus* (74,3 %), en el clado de *Thymelaea* (82,6 %), en el de *Daphne* (90 %) o en el que aglutina a todos los táxones del grupo externo, excepto *Diarthron vesiculosum*, (63,5 %) (fig. 4.1).

## 4.2.

### **Análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares**

#### 4.2.1.

#### **Alineamiento de las secuencias y estructura secundaria del ITS2**

La matriz de secuencias alineadas puede verse en el apéndice 7.3.

La optimización de la energía termodinámica de plegamiento con el programa mfold ha permitido desvelar la estructura secundaria de la molécula de pre-ARN ITS2 con notable confianza (fig. 4.2), al encontrarse siempre entre las predicciones óptimas y subóptimas de cada especie una sola que respondió al mismo patrón en todas ellas y que resultó ser coincidente con el modelo general de estructura propuesto para este espaciador en angiospermas y algas verdes (HERSHKOVITZ & ZIMMER, 1996; MAI & COLEMAN, 1997). Efectivamente, en las predicciones obtenidas es posible identificar las características comunes de esta estructura indicadas por MAI & COLEMAN (1997), entre las que se encuentran cuatro hélices principales conectadas por secuencias no apareadas y la mayor longitud de la hélice III respecto al resto.

El conocimiento de la estructura secundaria, sin embargo, no sirvió para resolver las ambigüedades presentadas en el alineamiento de la región 408-425, por lo que dicha región se excluyó en los sucesivos análisis filogenéticos. Como ya se indicó, el alto grado de conservación de las posiciones que la flanquean permitió su delimitación sin incertidumbres.

#### 4.2.2.

#### **Análisis preliminar de las secuencias**

En la tabla 4.3 se resumen algunas de las características principales de las secuencias analizadas.

La región de los ITS tiene un tamaño en *Thymelaea* de 590 (*T. passerina*, *T. salsa* y *T. mesopotamica*) a 594 (*T. pubescens*) pares de nucleótidos. En el grupo externo la longitud de las secuencias oscila entre 586

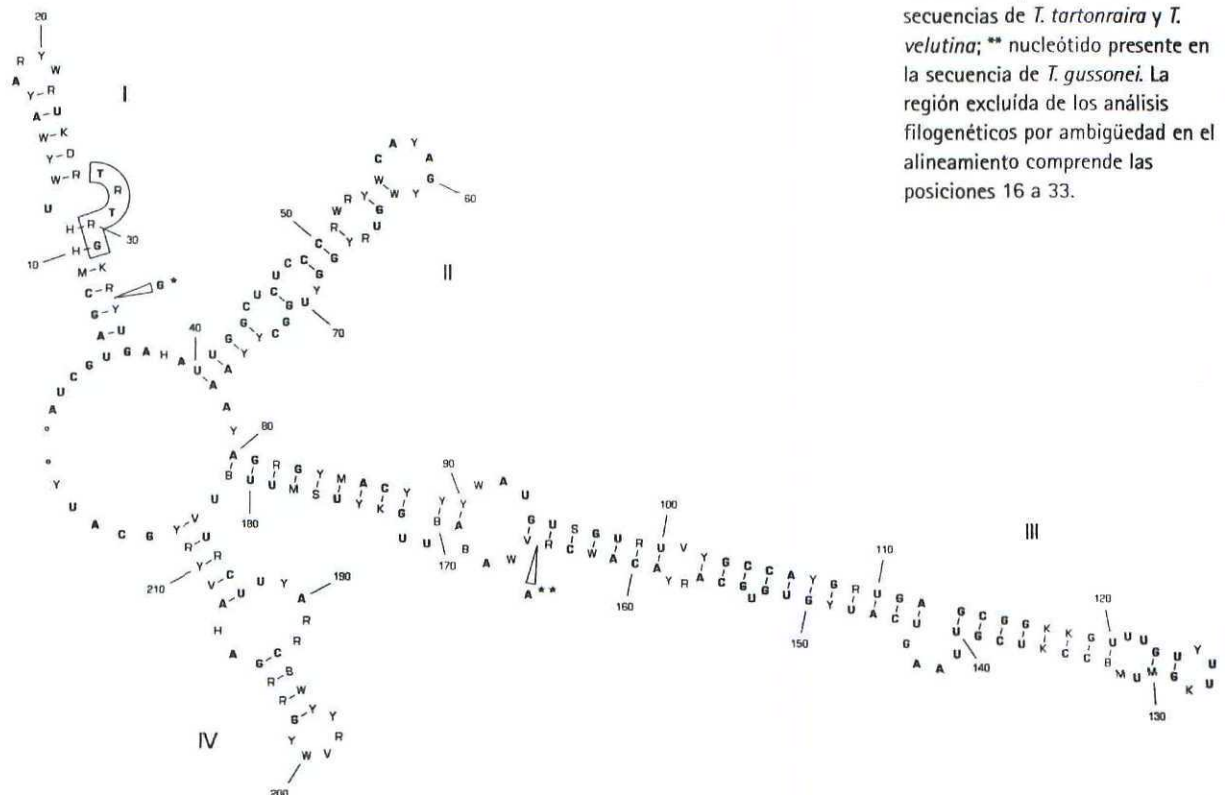
(*Stellera chamaejasme*) y 600 (*Daphne genkwa*) pares. Los dos espaciadores presentan poca diferencia de tamaño, aunque siempre el ITS1 es algo más corto que el ITS2; sus longitudes están dentro del rango conocido para angiospermas (BALDWIN & *al.*, 1995). El gen 5.8S mantiene una longitud constante (164 pb) entre todas las secuencias estudiadas.

Las diferencias de tamaño en cada uno de los ITS imponen la presencia de *gaps* en el alineamiento, cuya localización se puede ver en el apéndice 7.3. El número de *gaps* requerido para alinear todas las secuencias fue de 43 (47 incluyendo *Gnidia carinata*), lo que dio lugar a un alineamiento con 615 pb de longitud (617 con *Gnidia carinata*). Teniendo en cuenta sólo las secuencias correspondientes a *Thymelaea* el número de *gaps* incorporado fue de 28, resultando en este caso un alineamiento de 582 pb.

Se detectaron nueve posiciones polimórficas, repartidas entre las secuencias de *T. lythroides*, *T. granatensis* A y B, *T. pubescens* subsp. *thesioides*, *T. pubescens* subsp. *elliptica* A, *T. gussonei* y *Diarthron lesertii*.

Fig. 4.2. Modelo de estructura secundaria para la molécula de pre-ARN ITS2 en *Thymelaea* sobreimpuesto a la geometría obtenida para *T. coridifolia*. Los números romanos corresponden a la identificación de las hélices asignada por MAI & COLEMAN (1997) en sus predicciones para algas verdes y angiospermas. Las posiciones se han numerado cada diez nucleótidos. En negrita se indican las posiciones conservadas en todas las secuencias. Para las diferencias interespecíficas se han utilizado los símbolos de la IUPAC (B: C,G,T; D: A,G,T; H: A,C,T; K: G,T; M: A,C; R: A,G; S: C,G; V: A,C,G; W: A,T; Y: C,T). El recuadro y las flechas huecas señalan la localización aproximada de las inserciones/delecciones.

\* nucleótido presente en las secuencias de *T. tartonraira* y *T. velutina*; \*\* nucleótido presente en la secuencia de *T. gussonei*. La región excluida de los análisis filogenéticos por ambigüedad en el alineamiento comprende las posiciones 16 a 33.





	ITS1	5.8s	ITS2	ITS1-5.8s-ITS2
Longitud secuencias <i>Thymelaea</i> (pb): rango	211-215	164	212-218	590-594
Longitud secuencias <i>Thymelaea</i> (pb): media $\pm$ d.t.	211,71 $\pm$ 1,37	164 $\pm$ 0,00	216,13 $\pm$ 1,99	591,84 $\pm$ 0,82
Longitud secuencias (todas)(pb): rango	204-216	164	212-221	586-600
Longitud secuencias (todas)(pb): media $\pm$ d.t.	211,57 $\pm$ 1,90	164 $\pm$ 0,00	216,57 $\pm$ 2,20	592,15 $\pm$ 2,27
Longitud alineamiento <i>Thymelaea</i> (pb)	217	164	201	582
Longitud alineamiento (todas)(pb)	223	164	228	615
Contenido G+C <i>Thymelaea</i> (%): rango	43,65-48,34	54,87-56,09	46,69-50,69	48,30-51,01
Contenido G+C <i>Thymelaea</i> (%): media $\pm$ d.t.	46,33 $\pm$ 1,00	55,80 $\pm$ 0,44	48,32 $\pm$ 1,06	49,68 $\pm$ 0,65
Contenido G+C (todas)(%): rango	43,60-48,34	52,43-56,09	41,81-50,69	45,54-51,01
Contenido G+C (todas)(%): media $\pm$ d.t.	46,23 $\pm$ 1,14	55,61 $\pm$ 0,75	47,69 $\pm$ 1,88	49,36 $\pm$ 1,11
Nº de posiciones variables <i>Thymelaea</i>	71 (32,7 %)	6 (3,6 %)	78 (38,8 %)	155 (26,6 %)
Nº de posiciones variables (todas)	107 (47,9 %)	10 (6 %)	110 (48,2 %)	227 (36,9 %)
Nº de posiciones informativas (parsimonia) <i>Thymelaea</i>	53 (24,4 %)	6 (3,6 %)	53 (26,3 %)	112 (19,2 %)
Nº de posiciones informativas (parsimonia)(todas)	71 (31,8 %)	7 (4,2 %)	84 (36,8 %)	162 (26,3 %)
Nº de posiciones autoapomórficas <i>Thymelaea</i>	18 (8,2 %)	0 (0 %)	25 (12,4 %)	43 (7,3 %)
Nº de posiciones autoapomórficas (todas)	36 (16,1 %)	3 (1,8 %)	26 (11,4 %)	65 (10,5 %)
Divergencia $p^1$ <i>Thymelaea</i> (%): rango	0-10,96	0-3,04	0-12,50	0,47-11,17
Divergencia $p^1$ <i>Thymelaea</i> (%): media $\pm$ d.t.	6,26 $\pm$ 2,13	0,67 $\pm$ 0,79	6,62 $\pm$ 1,97	6,55 $\pm$ 1,79
Divergencia $p^1$ <i>Thymelaea</i> vs. g. externo (%): rango	7,26-15,75	0-4,26	11,06-21,22	7,48-12,87
Divergencia $p^1$ <i>Thymelaea</i> vs. g. externo (%): media $\pm$ d.t.	11,06 $\pm$ 1,85	1,49 $\pm$ 1,17	15,90 $\pm$ 1,91	9,98 $\pm$ 0,98
Transiciones (no ambiguas) $^2$ : media $\pm$ d.t.	135,19 $\pm$ 3,91	18,52 $\pm$ 0,78	129,70 $\pm$ 3,63	283,42 $\pm$ 6,48
Transversiones (no ambiguas) $^2$ : media $\pm$ d.t.	47,86 $\pm$ 0,61	1 $\pm$ 0,00	52,44 $\pm$ 1,36	101,30 $\pm$ 1,83
Transiciones/transversiones $^2$ : media $\pm$ d.t.	2,82 $\pm$ 0,06	18,52 $\pm$ 0,78	2,47 $\pm$ 0,06	2,79 $\pm$ 0,04

Tab. 4.3. Principales características de las secuencias estudiadas (excluida *Gnidia carinata*).

pb: pares de bases. d.t.: desviación típica.  $^1$  Divergencia observada ( $p$ ): número de posiciones diferentes entre las secuencias comparadas dividido por el número total de nucleótidos que las componen.

$^2$  Valores obtenidos sobre los 168 árboles de máxima parsimonia.

El contenido en G+C muestra pocas variaciones dentro de *Thymelaea* (48,30-51,01 %), con un valor medio para toda la secuencia próximo al 50 % (49,68 % $\pm$ 0,65). Una oscilación ligeramente mayor se alcanza al considerar también las especies incluidas en el grupo externo (45,54-51,01 %; 49,36 % $\pm$ 1,11). En cualquier caso, la mayor estabilidad la posee el gen 5.8S, en tanto que el espaciador ITS2 presenta los valores más dispares teniendo en cuenta todos los táxones (41,81-50,69 %). El contenido más alto es el del gen 5.8S, como es de esperar por su mayor nivel de conservación con relación a los espaciadores;

éstos, por su parte, presentan unos valores relativamente bajos respecto a los conocidos para angiospermas, cuyo contenido G+C se ha considerado que es, en general, elevado (BALDWIN & *al.*, 1995; HERSHKOVITZ & ZIMMER, 1996).

La composición en bases de las secuencias consideradas no ha seguido un modelo de tipo estacionario a lo largo de su historia evolutiva, según indican los tests aplicados para investigar este punto. El test de RZHETSKI & NEI (1995) rechaza la hipótesis de estacionariedad tanto para el conjunto de todas las secuencias como para las correspondientes sólo a *Thymelaea* (tabla 4.4). El test de KUMAR & GADAGKAR (2001), que aporta resultados para comparaciones dos a dos, muestra que son las secuencias de *Daphne* las que se apartan de manera generalizada del modelo seguido por el resto, acorde, por su parte, con un proceso homogéneo de sustitución para la gran mayoría de las comparaciones. Los resultados de este último test pueden verse en el apéndice 7.5.

El número de caracteres variables en el alineamiento supone el 37 % del total, algo menos (27 %) si se prescinde del grupo externo. Asimismo, aquellos que varían en más de una secuencia y son por tanto informativos desde el punto de vista cladístico, constituyen el 26 % y el 19 % respectivamente. Este tipo de caracteres se encuentra más o menos repartido por igual en ambos ITS, situándose sólo un pequeño número de ellos en el gen 5.8S. En la figura 4.3 se puede apreciar un perfil de mutabilidad aproximado para la región del ADN<sub>r</sub> estudiada.

La proporción de transiciones frente a transversiones, calculada sobre los árboles de máxima parsimonia obtenidos con igual peso para todos los caracteres, tiene un valor para toda la secuencia cercano a 2,8 (2,79±0,04).

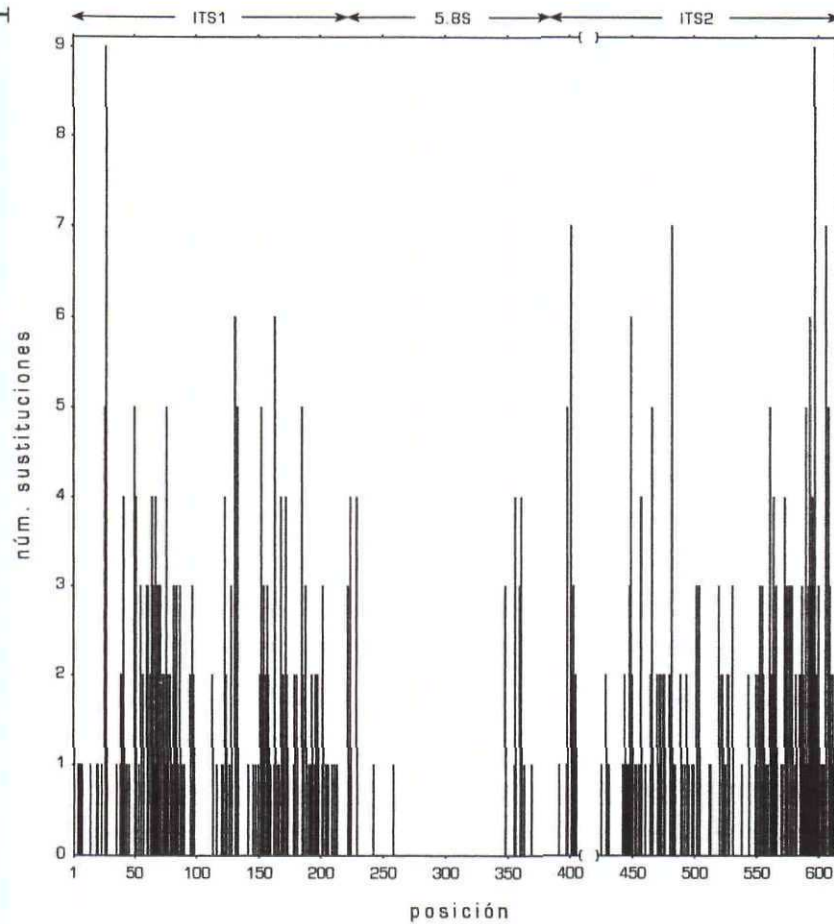
La divergencia observada entre las secuencias pertenecientes a diferentes especies de *Thymelaea* oscila entre 0,47 % (*T. tartonraira*-*T. velutina*) y 11,17 % (*T. tartonraira*-*T. passerina*). Teniendo en cuenta las correcciones para sustituciones múltiples según los modelos evolutivos JC, REV+I y la transformación LogDet, la divergencia máxima asciende algo, alcanzando los siguientes valores respectivos: 12,10 %, 14,39 % y 12,23 % (apéndice 7.4). Para secuencias que se consideran correspondientes a una misma especie la divergencia máxima (no hay diferencia en las estimaciones hechas sin y con corrección al nivel de precisión que indican las cifras) es de 3,87 % en *T. passerina*, 2,16 % en *T. broteriana*, 0,95 % en *T. coridifolia*, 0,71 % en *T. tartonraira*, 0,47 % en *T.*

Táxones	I	μ	P (%)
Todos	199,75	117	0,00*
<i>Thymelaea</i>	133,73	99	1,15*

Tab. 4.4. Resultados del test de estacionariedad de RZHETSKI & NEI (1995) para todos los táxones y sólo para los correspondientes a *Thymelaea*. I: estadístico del test (v. RZHETSKI & NEI, 1995). μ: grados de libertad. \* Rechazo significativo de la hipótesis nula (i.e., estacionariedad en la composición).



Fig. 4.3. Distribución del número de sustituciones a lo largo de la región del ADN estudiada, tal como es estimado con el criterio de máxima parsimonia sobre la topología mostrada en la fig. 4.5. Los paréntesis en el eje X delimitan las posiciones excluidas de los análisis filogenéticos por dificultades en su alineamiento.



*granatensis*, 0,47 % en *T. virgata*, 0,23 % en *T. dioica* y 0,23 % en *T. pubescens*; divergencia intraespecífica nula se ha encontrado en *T. tinctoria*, *T. tartonraira* y *T. ruizii*. Por otra parte, el rango de divergencia observado entre *Thymelaea* y las especies incluidas en el grupo externo va de 7,48 % [*T. sanamunda*-*Daphne oleoides*] a 12,47 % [*T. salsa*-*Stellera chamaejasme*]; 10,98 %-20,16 %, 13,22 %-28,52 % y 11,22 %-20,65 % con las correcciones JC, REV+Γ y la transformación LogDet, respectivamente. Por último, las divergencias mínima y máxima de *Gnidia carinata* con el resto de los táxones se ha estimado en 18,28 % [*Wikstroemia canescens*] y 22,38 % [*Daphne genkwa*]; 20,96 %-26,58 %, 25,98 %-34,88 % y 21 %-26,45 % con las correcciones respectivas según los mismos modelos anteriores.

Los datos contienen una señal filogenética considerable, a juzgar por la notable asimetría ( $g_1 = -0,8678$ ) que muestra la distribución seguida por las frecuencias de las longitudes de los árboles generados



aleatoriamente. El árbol de menor longitud (894 pasos) obtenido de este modo supera en 389 pasos a los resultantes del análisis con máxima parsimonia.

#### 4.2.3.

### Reconstrucción filogenética con el criterio de parsimonia

#### 4.2.3.1.

#### Efecto de los tratamientos de las inserciones/delecciones

Los tratamientos alternativos de las regiones o posiciones con inserciones/delecciones no tienen efecto alguno sobre la topología de los grupos con mejor apoyo relativo (>55 %) ni sobre estos valores de apoyo. Por otro lado, los valores de los índices de consistencia (CI) y de retención (RI), considerados indicadores del grado de ajuste de los caracteres a la hipótesis filogenética a través del nivel de homoplasia (KLUGE & FARRIS, 1969; FARRIS, 1989; 1991; GOLOBOFF, 1991; ARCHIE, 1996), presentan variaciones mínimas entre los distintos tratamientos (tab. 4.5).

Además de las apreciaciones anteriores, se ha podido observar lo siguiente:

1- Siempre que se excluyen en los análisis las posiciones con *gaps*, independientemente de si se codifican aparte o no y de que modo se haga, se obtiene la misma topología de consenso (figs. 4.6 y 4.7) y el mismo número de árboles (tab. 4.5).

2- Cuando estas posiciones se mantienen, con independencia de si se añaden además como caracteres binarios (presencia/ausencia de *gaps*) o se considera la ausencia de nucleótido como un quinto estado, resulta siempre una topología de consenso idéntica y diferente de la anterior (figs. 4.4 y 4.5).

Estos resultados son esclarecedores en cuanto al peso de la información suministrada por los eventos de sustitución y de inserción/delección, al permitir concluir lo siguiente:

1- La información que aporta la presencia/ausencia de *gaps* no parece relevante, pues el resultado final es independiente de que se inclu-

**Tab. 4.5.** Resultados de los análisis con los tratamientos de las inserciones/delecciones ensayados bajo el criterio de parsimonia (sin pesaje de caracteres, mostrados en la fila superior de cada tratamiento, y con pesaje de caracteres, en la fila inferior).  
' Evento del que se aprovecha información en el tratamiento aplicado; S: sustitución. ID: inserción/delección. NT: número total de caracteres. NI: número de caracteres informativos. NC: número de caracteres constantes. NP: número de caracteres con peso distinto de 1 (pesos basados en el rc). NA: número de árboles de máxima parsimonia. L: longitud de los árboles. CI: índice de consistencia excluyendo los caracteres no informativos. RI: índice de retención. T: topología (A: fig. 4.4; B: fig. 4.6; C: fig. 4.5; D: fig. 4.7). DP: *gaps* codificados como "datos perdidos". 5E: *gaps* codificados como quinto estado. ID: series de *gaps* consideradas eventos únicos de inserción/delección y codificadas como caracteres binarios. id: caracteres con *gaps* codificados como caracteres binarios. EX: exclusión de regiones afectadas por *gaps*.

Tratamiento	S/ID'	NT	NI	NC	NP	NA	L	CI	RI	T
DP	+/-	597	162	370	0	168	513	0.487	0.751	A
					112	1	228.435	0.706	0.876	C
5E	+/-	597	175	347	0	161	555	0.506	0.755	A
					116	1	259.861	0.728	0.882	C
DP+ID	+/-	606	171	370	0	168	526	0.497	0.756	A
					114	1	237.935	0.720	0.882	C
EX+ID	-/+	570	164	347	0	50	499	0.502	0.757	B
					110	3	224.770	0.722	0.883	D
EX+id	-/+	576	170	347	0	50	508	0.501	0.756	B
					114	3	226.394	0.721	0.883	D
EX	-/-	561	155	347	0	50	486	0.491	0.752	B
					108	3	215.270	0.707	0.877	D

ya o no y de la manera en que se codifique.

2.- La información contenida en las sustituciones correspondientes a los caracteres con *gaps* sí parece relevante, como se advierte por la diferencia de resultados cuando se incluyen o no en el análisis, sin importar que a la vez se consideren o no los *gaps* en caracteres o estados independientes.

A la luz de estos resultados, el tratamiento de "datos perdidos" (DP) se juzga el más apropiado, máxime si se tiene también en consideración que no existen ambigüedades aparentes en el alineamiento de las posiciones con *gaps* (fuera de la región excluida) que puedan afectar al análisis con el tratamiento elegido, que la mayoría de los *gaps* se presentan repartidos y no superan las series de tres y que la divergencia de las secuencias es relativamente baja. En cualquier caso, las topologías de consenso obtenidas con igual peso para los caracteres presentan diferencias poco importantes y son congruentes entre sí.

4.2.3.2.  
Hipótesis filogenéticas

Cuando se asigna un peso uniforme a todos los caracteres las relaciones filogenéticas se manifiestan, en general, poco resueltas, par-

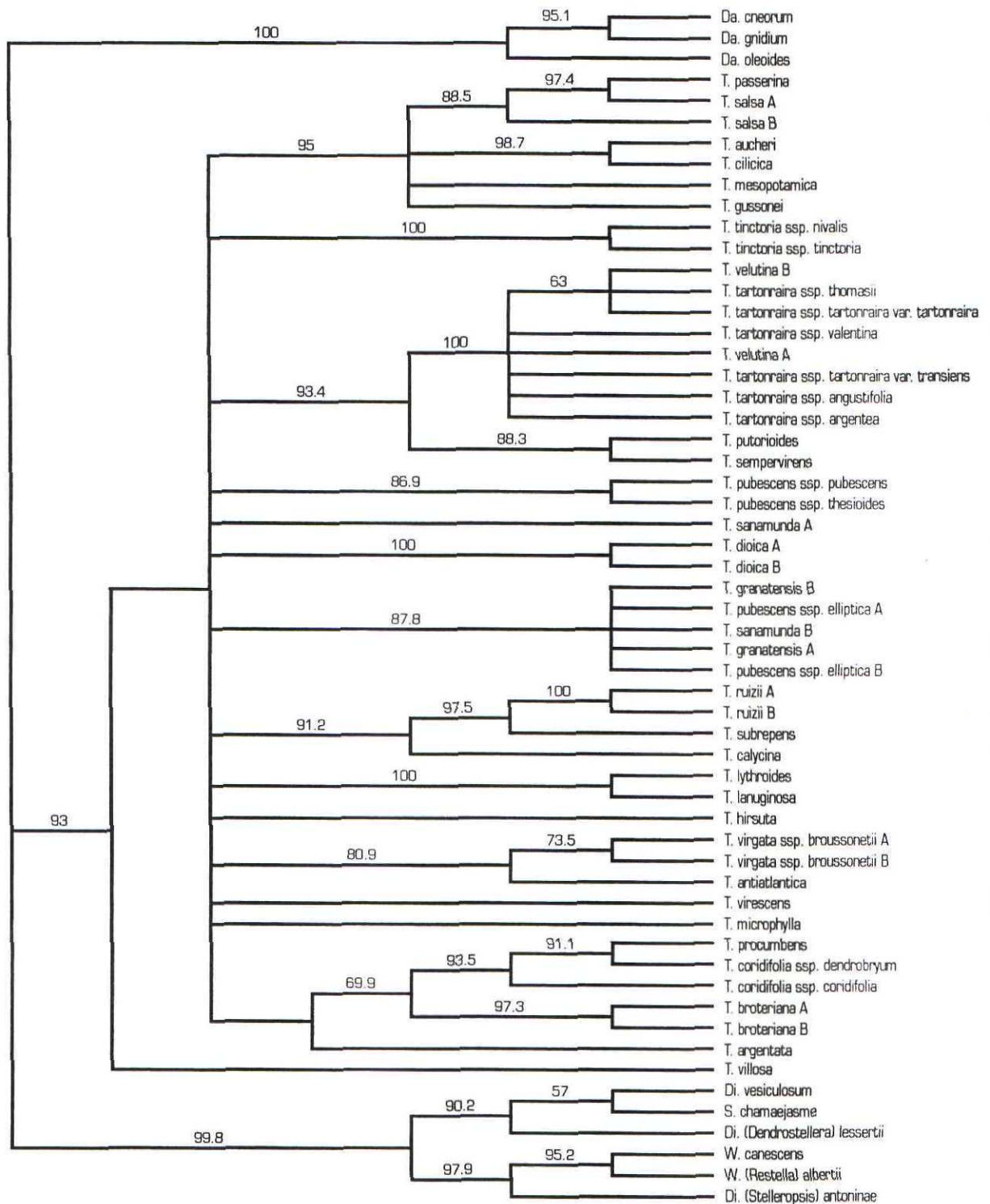


Fig. 4.4. Árbol de consenso estricto de los 168 obtenidos al analizar la región de los ITS con el criterio de parsimonia de Fitch. L: 513; CI (excluidos los caracteres no informativos): 487; RI: 751. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 1000 repeticiones).



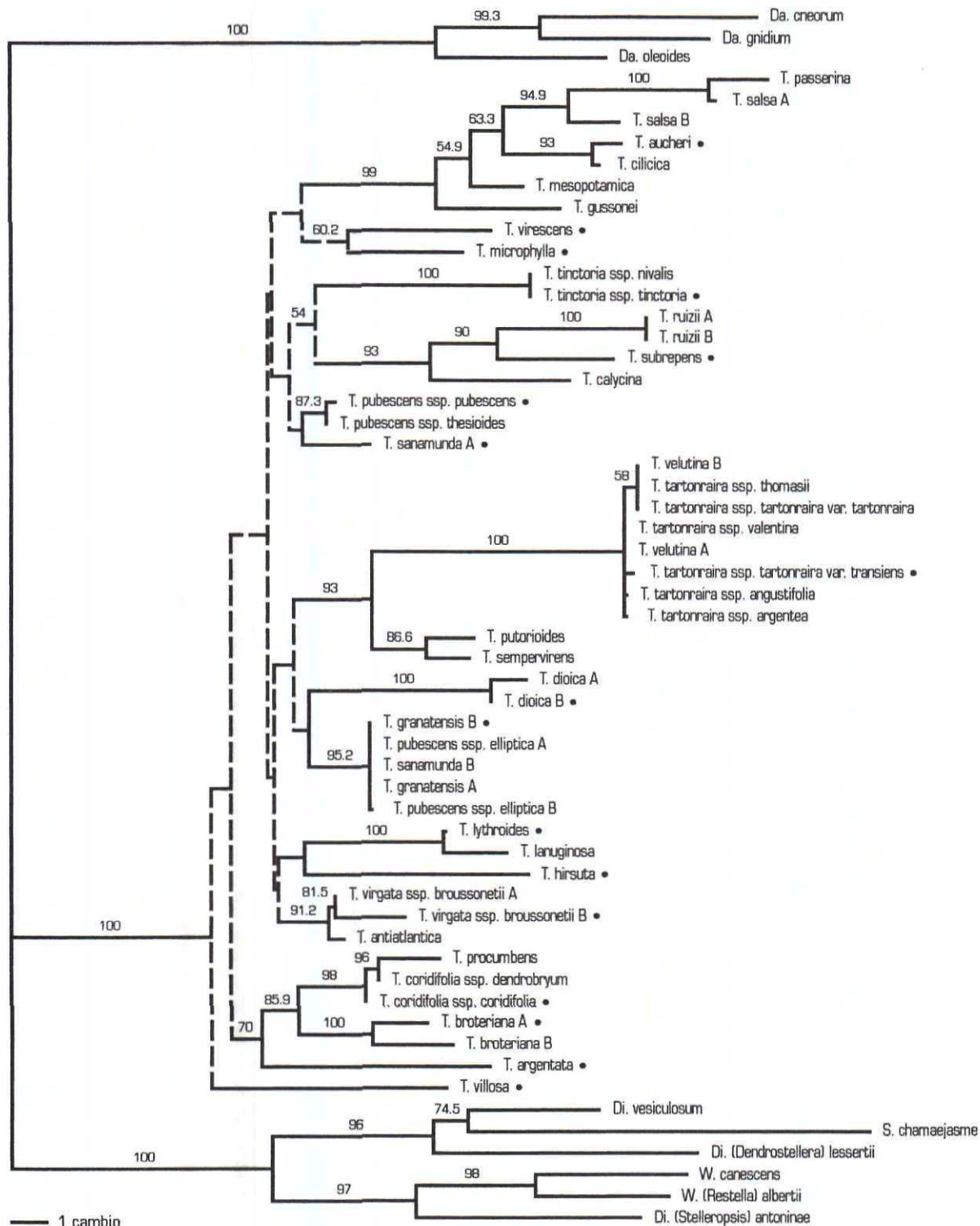


Fig. 4.5. Filograma del único árbol obtenido tras el análisis de la región de los ITS con pesaje sucesivo de caracteres y el criterio de parsimonia de Fitch. Esta topología se encuentra entre las 168 resultantes del mismo análisis pero con un peso uniforme para los caracteres. L: 228,435; CI (excluidos los caracteres no informativos): 0,706; RI: 0,876. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq$  50 % (porcentaje sobre 1000 repeticiones). Con un punto están señaladas las secuencias utilizadas para evaluar la hipótesis de radiación

ticularmente en los niveles más profundos del árbol (fig. 4.4). Los grupos más robustos, no obstante, muestran su consistencia frente a cualquier variante relativa al modo de tratar las inserciones/delecciones. Entre éstos se incluyen el que destaca como monofilético al propio género *Thymelaea* (apoyo *bootstrap* de 93 %) y el correspondiente a la denominada sección *Ligia* (95 %), así como otros grupos más pequeños formados por los siguientes táxones: *T. tartonraira*-*T. velutina*-*T. putorioides*-*T. sempervirens* (93 %); *T. calycina*-*T. subrepens*-*T. ruizii* (91 %); *T. lythroides*-*T. lanuginosa* (100 %); *T. antiatlantica*-*T. virgata* (90 %) y *T. coridifolia*-*T. procumbens* (93,5 %). Las relaciones entre estos grupos se encuentran apoyadas débilmente y son casi siempre inconsistentes, por lo que en el árbol de consenso estricto quedan reflejadas como una gran politomía basal (fig. 4.4).

En el grupo externo es destacable la solidez y el elevado apoyo de las relaciones entre los géneros *Diarthron*, *Stellera* y *Wikstroemia* (99,8 %) respecto a *Daphne* (100 %) y *Thymelaea*.

El pesaje diferencial de los caracteres provoca una reducción muy notable en el número de hipótesis posibles de máxima parsimonia, al mismo tiempo que un incremento considerable en los índices CI y RI (tab. 4.5). Debido a ello la resolución es alta cualquiera que sea el tratamiento de las inserciones/delecciones (figs. 4.5 y 4.7). Sin embargo, el apoyo de los clados es débil fuera de los grupos que se resolvieron de manera robusta cuando el peso de los caracteres se mantuvo uniforme. Como excepciones hay que señalar el apoyo moderado (algo mayor de 70 %) que obtienen en esta ocasión los grupos *T. coridifolia*-*T. procumbens*-*T. broteriana* y *Diarthron vesiculosum*-*Stellera*. Es destacable, en todo caso, el incremento generalizado de los valores de *bootstrap* que se produce en este análisis. En algunos casos dicho incremento llega a ser bien patente: *Thymelaea*; *T. passerina*-*T. salsa* A-*T. salsa* B; *T. passerina*-*T. salsa* A-*T. salsa* B-*T. aucheri*-*T. cilicica*-*T. mesopotamica*; *T. antiatlantica*-*T. virgata*; *T. coridifolia*-*T. procumbens*-*T. broteriana*-*T. argentata*, además de los dos grupos antes señalados. Es reseñable también la consistencia de los clados que reúnen a *T. dioica* con *T. granatensis* y a *T. hirsuta*-*T. lythroides*-*T. lanuginosa* con *T. antiatlantica*-*T. virgata*, aunque tienen asociados siempre apoyos estadísticos bajos.

[Fig. 4.5 (cont.)](pág. 60). En trazo discontinuo se representa la parte de la filogenia cuya resolución no está respaldada por señal filogenética alguna, tal como es evaluada por el estadístico *g1* (pág. 109).

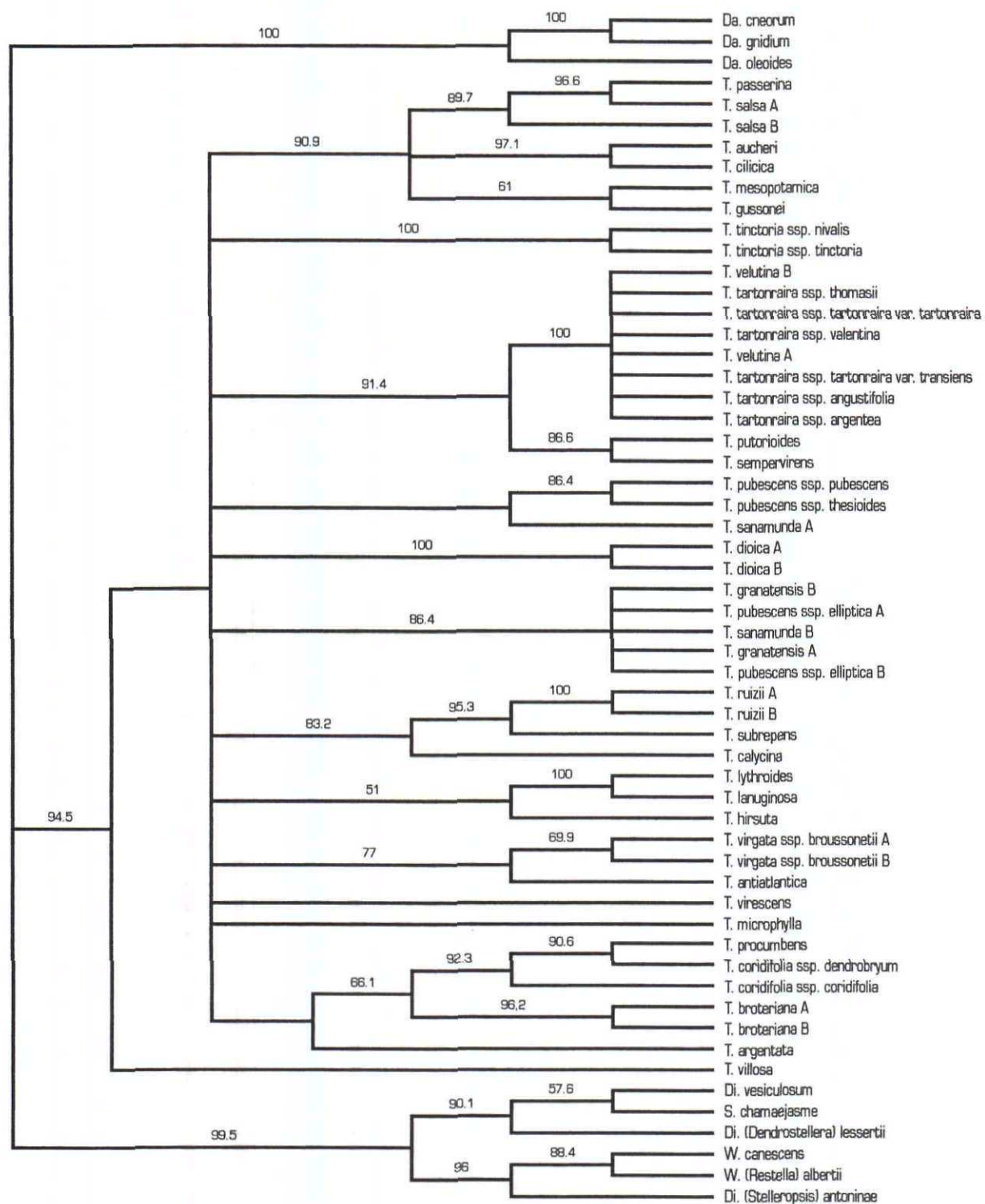


Fig. 4.6. Árbol de consenso estricto de los 50 obtenidos al analizar la región de los ITS con el criterio de parsimonia de Fitch, pero excluyendo las posiciones con *gaps*. L: 486; CI (excluidos los caracteres no informativos): 0,491; RI: 0,752. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 1000 repeticiones).



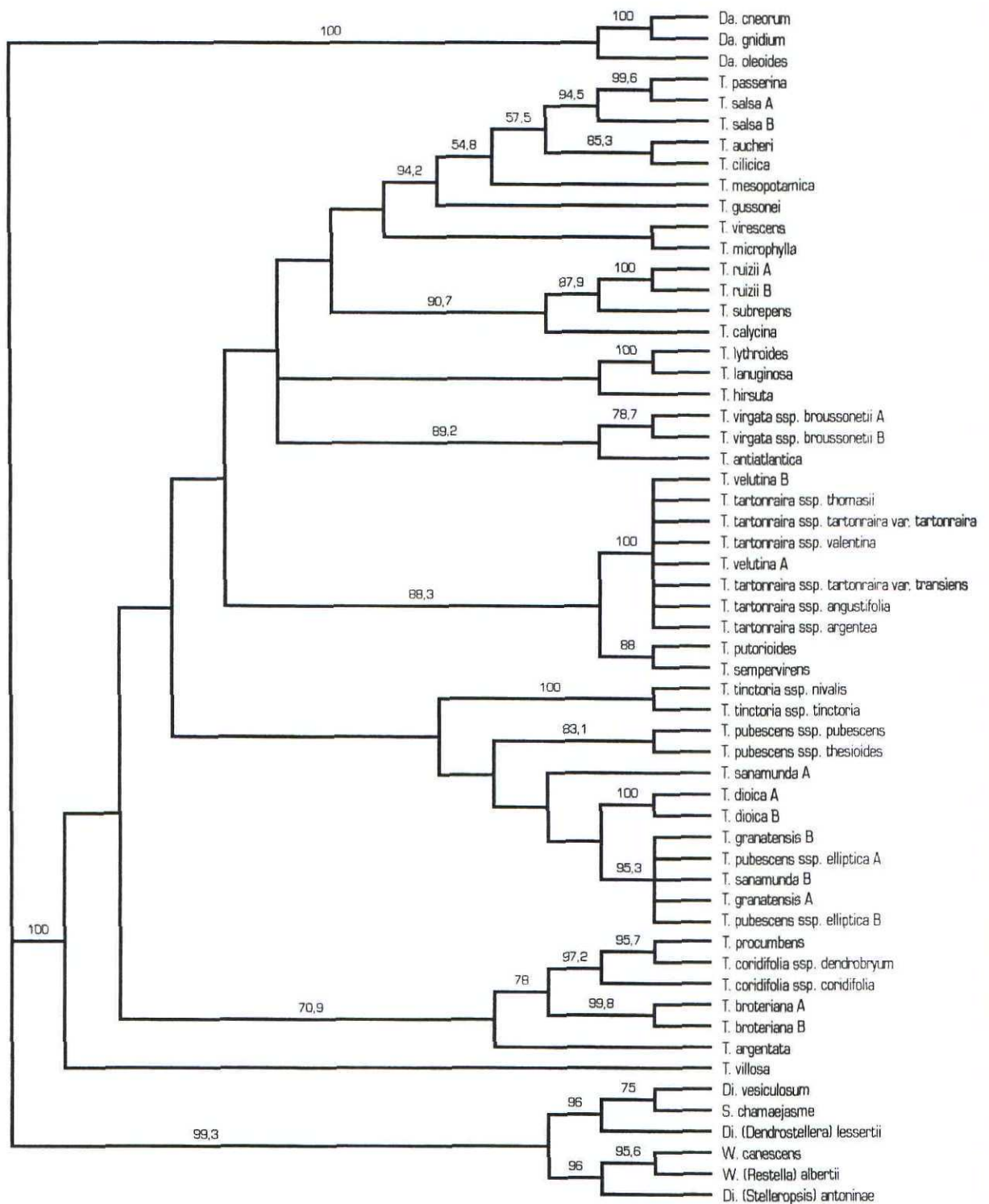


Fig. 4.7. Árbol de consenso estricto de los 3 obtenidos tras el análisis de la región de los ITS con pesaje sucesivo de caracteres y el criterio de parsimonia de Fitch, pero excluyendo las posiciones con *gaps*. L: 215,270; CI (excluidos los caracteres no informativos): 0,707; RI: 0,877. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 1000 repeticiones).

En todos los análisis con parsimonia sobresale, por llamativa, la robusta agrupación de *T. granatensis*, *T. pubescens* subsp. *elliptica* y *T. sanamunda* B, que no incluye, sin embargo, las secuencias de *T. pubescens* subsp. *pubescens* y *T. pubescens* subsp. *thesioides* ni la población A de *T. sanamunda*. Estas relaciones son especialmente relevantes por desvelar la probable ocurrencia de introgresión o de *lineage sorting* (segregación diferencial de polimorfismos alélicos) en este grupo de poblaciones. En la discusión se tratará con mayor profundidad la interpretación de este suceso (pág. 134).

Tab. 4.6. Valores de verosimilitud y resultados de los tests de bondad de ajuste [ $\partial = -2 (\ln L_1 - \ln L_0)$ ] para los modelos de sustitución evaluados sobre uno de los árboles obtenidos con el criterio de máxima parsimonia. JC: modelo de Jukes-Cantor (1969); asume frecuencias idénticas para todos los nucleótidos y la misma probabilidad para todas las sustituciones. K2P: modelo de Kimura con dos parámetros (1980); asume frecuencias idénticas para todos los nucleótidos, pero permite distinta probabilidad para transiciones y transversiones. HKY: modelo de Hasegawa, Kishino y Yano (1985); permite diferentes frecuencias para todos los nucleótidos, así como distinta probabilidad para transiciones y transversiones. REV: modelo general-reversible (LANAVE Et al., 1984; RODRIGUEZ Et al., 1990); permite diferentes frecuencias para todos los nucleótidos y probabilidades para todas las sustituciones. I: el modelo correspondiente asume una proporción estimada de sitios invariables. I': el modelo correspondiente asume una probabilidad para las sustituciones dependiente de la posición y que dicha probabilidad se aproxima a una distribución gamma con estimación del parámetro  $\alpha$  (YANG, 1994). El número de categorías de sustitución se fijó en 4.  $\mu$ : grados de libertad. \* Rechazo significativo de la hipótesis nula ( $P < 0,05$ ).

Modelo	$\ln L_0$	$\ln L_1$	$\partial$	$\mu$	$\chi^2_{(\mu, 0.05)}$
JC	- 3664,23	- 3350,52	627,40*	10	18,30
JC+I	- 3594,67	- 3350,52	488,28*	9	16,91
JC+I'	- 3581,94	- 3350,52	462,83*	9	16,91
JC+I'+I	- 3581,06	- 3350,52	461,06*	8	15,50
K2P	- 3485,21	- 3350,52	269,37*	9	16,91
K2P+I	- 3413,01	- 3350,52	124,97*	8	15,50
K2P+I'	- 3398,20	- 3350,52	95,34*	8	15,50
K2P+I'+I	- 3397,31	- 3350,52	93,57*	7	14,06
HKY	- 3467,50	- 3350,52	233,95*	6	12,59
HKY+I	- 3396,87	- 3350,52	92,69*	5	11,07
HKY+I'	- 3382,95	- 3350,52	64,84*	5	11,07
HKY+I'+I	- 3382,05	- 3350,52	63,05*	4	9,48
REV	- 3435,44	- 3350,52	169,83*	2	5,99
REV+I	- 3367,80	- 3350,52	34,54*	1	3,84
REV+I'	- 3350,60	- 3350,52	0,16	1	3,84

#### 4.2.4

#### Evaluación de modelos evolutivos de sustitución

En la tabla 4.6 se muestran los modelos evaluados y los resultados de los test de bondad de ajuste basados en la razón de verosimilitudes. En ella se puede ver que, entre todos los modelos, el que mejor describe el proceso de sustitución con el menor número de parámetros es el REV+ $\Gamma$ , el cual proporciona el valor de verosimilitud más alto sin que difiera significativamente ( $P < 0,05$ ) respecto al modelo más general (REV+ $\Gamma$ +I). Las proporciones de las diferentes sustituciones posibles y el valor del parámetro  $\alpha$  estimados con dicho modelo están reflejados en la tabla 4.7a. Estos valores, obtenidos sobre uno de los árboles resultantes del análisis con parsimonia (MP107), son razonablemente similares a los estimados sobre los árboles obtenidos mediante los otros métodos de reconstrucción filogenética empleados (tabla 4.7 b, c, d, e). Su utilización en los análisis produjo los mismos resultados que al aplicar los obtenidos sobre la topología de máxima parsimonia.

#### 4.2.5.

#### Variación de la tasa de sustitución entre las líneas evolutivas

Los resultados del test de bondad de ajuste indican que no es posible rechazar la hipótesis del reloj molecular (tasa de sustitución homogénea) para ninguna de las topologías obtenidas con cualquiera de los métodos de reconstrucción filogenética que utilizan distancias (tab. 4.8). No ocurre lo mismo al aplicar el test a la topología de máxima parsimonia, para la que se produce un rechazo significativo de la hipótesis nula ( $P < 0,005$ ). La disparidad de resultados impide aclarar, por tanto y según este test, si existe o no suficiente heterogeneidad en la tasa de sustitución de las líneas que integran la trayectoria evolutiva de *Thymelaea*.

Frente a la evaluación global del test anterior, el de Tajima presenta resultados pormenorizados para las comparaciones de la tasa de sustitución entre diferentes líneas evolutivas. Estos resultados se exponen en el apéndice 7.7. De ellos se deriva que no es aceptable una tasa de sus-

a.

	A	C	G	T
A	-	0,857	3,532	1,594
C	0,857	-	0,571	9,386
G	3,532	0,571	-	1
T	1,594	9,386	1	-

 $\alpha$ : 0,682

b.

	A	C	G	T
A	-	0,937	3,504	1,608
C	0,937	-	0,572	9,652
G	3,504	0,572	-	1
T	1,608	9,652	1	-

 $\alpha$ : 0,675

c.

	A	C	G	T
A	-	0,909	3,425	1,558
C	0,909	-	0,555	9,320
G	3,425	0,555	-	1
T	1,558	9,320	1	-

 $\alpha$ : 0,675

d.

	A	C	G	T
A	-	0,935	3,552	1,607
C	0,935	-	0,576	9,555
G	3,552	0,576	-	1
T	1,607	9,555	1	-

 $\alpha$ : 0,678

e.

	A	C	G	T
A	-	0,924	3,486	1,590
C	0,924	-	0,558	9,552
G	3,486	0,558	-	1
T	1,590	9,552	1	-

 $\alpha$ : 0,675



Tab. 4.7. [pág. anterior]

Proporciones relativas de las distintas sustituciones posibles y valor del parámetro  $\alpha$  estimados con el modelo REV+ $\Gamma$  sobre los árboles obtenidos con los diferentes métodos de análisis filogenético empleados. a. Sobre uno de los árboles de máxima parsimonia (MP107); b. Sobre los árboles obtenidos con *neighbor-joining* y los modelos de sustitución JC y LogDet; c. Sobre los árboles de evolución mínima obtenidos con los modelos JC y LogDet; d. Sobre los árboles obtenidos con *neighbor-joining* y el modelo REV+ $\Gamma$ . e. Sobre los árboles de evolución mínima obtenidos con el modelo REV+ $\Gamma$ .

titución homogénea (reloj molecular) para 63 de las 506 comparaciones con alguno de los dos métodos del test (1D, 2D) y a un nivel de significación de  $P<0,05$ . Del mismo modo, al nivel  $P<0,01$  son 16 las comparaciones que rechazan dicha hipótesis. Es interesante resaltar que en estos 16 casos está implicada siempre alguna de las siguientes especies: *Thymelaea sanamunda*, *T. pubescens*, *T. antiatlantica* y *T. virgata*. Recurriendo de nuevo a un nivel  $P<0,05$  se observa que son estas mismas especies las que intervienen en la gran mayoría de las comparaciones para las que no se ajusta el reloj molecular y que a ellas se añade *T. granatensis* cuando se utiliza *Diarthron* como grupo externo. Participando *Diarthron* y a  $P<0,01$ , por otra parte, sólo cinco comparaciones ven rechazada la hipótesis nula con uno o los dos métodos del test y únicamente dos arrojan este resultado con ambos métodos. Si se utiliza *Daphne* en vez de *Diarthron* las cifras cambian a 11 y 6 respectivamente [tab. 4.9].

Teniendo en cuenta los resultados del test de Tajima, se juzgó apropiado evaluar de nuevo la bondad del ajuste del reloj molecular a la topología de parsimonia excluyendo los táxones más desviantes respecto a la tasa de sustitución mantenida por el resto de los clados, que fueron, recordamos, *T. sanamunda*, *T. pubescens*, *T. antiatlantica* y *T. virgata*. Esta vez el resultado indica que no se detectan diferencias significativas entre las tasas de sustitución de las distintas líneas que componen la topología mencionada [tab. 4.8].

Tab. 4.8. Test de la hipótesis del reloj molecular basado en la razón de verosimilitudes [ $\partial = -2 (\ln L_1 - \ln L_0)$ ] para topologías conseguidas mediante las diferentes metodologías empleadas (MP: parsimonia. NJ: *neighbor-joining*. EM: evolución mínima). Se muestran los resultados obtenidos con el modelo REV+ $\Gamma$ . En cada comparación, la variante 1 del modelo no asume reloj molecular, frente a la versión 0 que sí presenta esta restricción.  $\mu$ : grados de libertad. \* Rechazo significativo de la hipótesis nula ( $P<0,05$ ). MP107#: misma topología que MP107, pero excluyendo *T. sanamunda*, *T. pubescens*, *T. antiatlantica* y *T. virgata*.

Topología	$\ln L_0$	$\ln L_1$	$-2\partial$	$\mu$	$\chi^2_{(1\alpha, 0.05)}$
MP107	- 3393,04	- 3350,60	84,86*	55	73,31
MP107#	- 3240,10	- 3208,22	63,75	49	66,33
NJ-JC	- 3378,87	- 3346,20	65,33	55	73,31
NJ-REV+ $\Gamma$	- 3386,12	- 3350,13	71,97	55	73,31
NJ-LogDet	- 3376,18	- 3341,87	68,62	55	73,31
EM-JC	- 3385,05	- 3351,89	66,32	55	73,31
EM-REV+ $\Gamma$	- 3386,88	- 3352,40	68,96	55	73,31
EM-LogDet	- 3379,81	- 3345,90	67,82	55	73,31

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Daphne	T. sanamunda A	T. hirsuta	7,35	9,25
Daphne	T. sanamunda A	T. villosa		6,33 †
Daphne	T. sanamunda A	T. tinctoria	6,55 †	8,25 †
Daphne	T. sanamunda A	T. tartonraira	9	9 †
Daphne	T. sanamunda A	T. dioica	9	9,14
Daphne	T. sanamunda A	T. granatensis A	6,23 †	6,45 †
Daphne	T. sanamunda A	T. calycina	5,26 †	8 †
Daphne	T. sanamunda A	T. ruizii	11,56	12,76
Daphne	T. sanamunda A	T. argentata	8,05	9,92
Daphne	T. sanamunda A	T. coridifolia	6,37 †	7 †
Daphne	T. sanamunda A	T. broteriana	7,2	8,27 †
Daphne	T. sanamunda A	T. subrepens	9	10,56
Daphne	T. sanamunda A	T. passerina	9,97	12,2
Daphne	T. pubescens	T. hirsuta		6,47 †
Daphne	T. pubescens	T. villosa		6,33 †
Daphne	T. pubescens	T. tartonraira	5,76 †	
Daphne	T. pubescens	T. dioica	4,57 †	
Daphne	T. pubescens	T. calycina		6,07 †
Daphne	T. pubescens	T. ruizii	7,35	9,25
Daphne	T. pubescens	T. argentata	4,26 †	7,33 †
Daphne	T. pubescens	T. subrepens	5,26 †	7,47 †
Daphne	T. pubescens	T. passerina	5,83 †	7,24 †
Daphne	T. antiatlantica	T. hirsuta	3,86 †	
Daphne	T. antiatlantica	T. tartonraira	4,48 †	
Daphne	T. antiatlantica	T. ruizii	6,76 †	7,13 †
Daphne	T. antiatlantica	T. subrepens	5,76 †	
Daphne	T. antiatlantica	T. passerina	5,45 †	6,63 †
Daphne	T. virgata	T. hirsuta	3,86 †	
Daphne	T. virgata	T. passerina	5,45 †	7,08 †
Daphne	T. virgata	T. tartonraira	4,84 †	
Daphne	T. virgata	T. ruizii	8,05	8,14 †
Daphne	T. virgata	T. subrepens	7,12	7,12 †
Daphne	T. virgata	T. argentata	3,86 †	
Daphne	T. tartonraira	T. villosa		6,44 †
Daphne	T. tartonraira	T. putorioides	5,56 †	8,33 †
Daphne	T. mesopotamica	T. passerina	5,26 †	
Daphne	T. dioica	T. subrepens		6,39 †
Daphne	T. lythroides	T. ruizii	5,14 †	7,13 †
Daphne	T. lythroides	T. subrepens	3,85 †	

Tab. 4.9. Extracto de la tabla mostrada en el apéndice 7.7 que reúne sólo las comparaciones entre las líneas evolutivas para las que se dan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en la tasa de sustitución. Los resultados se presentan separados según el grupo externo utilizado: *Daphne oleoides* o *Diarthron* (= *Stelleropsis*) *antoninae*. † Se acepta la hipótesis nula (i.e., no existen diferencias significativas entre las tasas de sustitución de las líneas evolutivas que se comparan) al nivel  $P < 0,01$ .

[Tab. 4.9. (cont.)]

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron	<i>T. sanamunda</i>	<i>T. hirsuta</i>	4,55 †	
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. hirsuta</i>	8,17	9,26
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. virescens</i>	5,76 †	6 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. villosa</i>		6,33 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. mesopotamica</i>	6 †	7,2 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. tinctoria</i>	5 †	6,25 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. tartonraira</i>	5,76 †	6,88 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. calycina</i>	7,2	8,57 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. ruizii</i>	6,55 †	8,67 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. lythroides</i>	5,76 †	6,26 †
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. subrepens</i>	7,35	9,25
Diarthron	<i>T. pubescens</i>	<i>T. aucheri</i>	6,76	6,8 †
Diarthron	<i>T. virgata</i>	<i>T. subrepens</i>	4,76 †	
Diarthron	<i>T. virgata</i>	<i>T. hirsuta</i>	5 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. hirsuta</i>	6,76	6,93 †
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. virescens</i>	4,17 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. mesopotamica</i>	5,26 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. tartonraira</i>	4,55 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. calycina</i>	5,26 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. ruizii</i>	4,84 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. subrepens</i>	5,26 †	6,17 †
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. lythroides</i>	4,55 †	
Diarthron	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. aucheri</i>	5,14 †	
Diarthron	<i>T. virescens</i>	<i>T. villosa</i>		7,57 †

Por todo lo anterior, parece razonable asumir una tasa evolutiva relativamente homogénea para todas las líneas que integran *Thymelaea*, excepto para las que conducen a *T. sanamunda*-*T. pubescens*, por un lado, y a *T. antiatlantica*-*T. virgata*, por otro.



## 4.2.6.

## Saturación de cambios en las secuencias

La comparación del número mínimo de sustituciones, tal y como es inferido aplicando el principio de parsimonia, con los valores de distancia estimados teniendo en cuenta la posibilidad de sustituciones múltiples, muestra una relación más o menos lineal entre ambas medidas (fig. 4.8). Esta geometría indica que las secuencias no han alcanzado la saturación de cambios, lo que se descubriría si la nube de puntos llegara a formar una "meseta" hacia el extremo máximo de sustituciones. Como mucho se percibe una tendencia hacia esta última configuración para distancias superiores a 24 %, en las cuales está implicada siempre *Stellera chamaejasme*. Sólo para este taxon se podría apuntar entonces un principio de saturación.

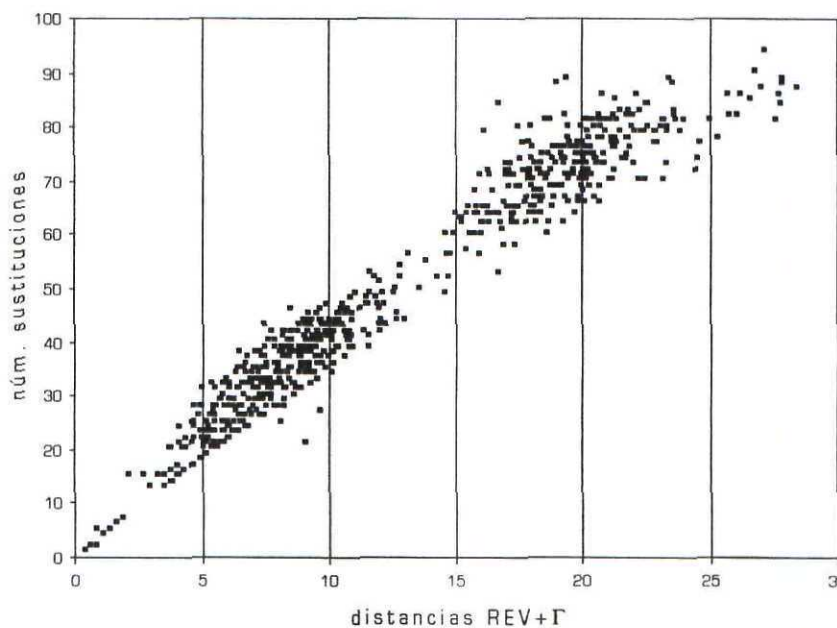


Fig. 4.8. Número mínimo de sustituciones inferido con el criterio de máxima parsimonia sobre la topología mostrada en la fig. 4.5 y comparado con las distancias estimadas teniendo en cuenta la posibilidad de sustituciones múltiples según el modelo REV+ $\Gamma$ . Se observa sólo un principio de saturación para distancias superiores a 24 %.

## 4.2.7.

**Reconstrucción filogenética con el método de *neighbor-joining***

Las reconstrucciones obtenidas con *neighbor-joining* y los tres modelos evolutivos asumidos para los procesos de sustitución muestran total coincidencia respecto a los clados más robustos (>56,2 %) (figs. 4.9-4.11). Éstos, a su vez, son esencialmente los mismos que los obtenidos en los análisis con parsimonia, siendo si acaso destacable el apoyo moderado (>71 %) que ahora consigue el grupo *T. passerina*-*T. salsa*-*T. aucheri*-*T. cilicica* dentro del correspondiente a la sección *Ligia*. Además, el clado que reúne a las especies de esta sección mantiene en estos análisis una posición basal dentro de *Thymelaea*, si bien esta posición no tiene más que un máximo de 38,6 % de apoyo.

Las topologías obtenidas con cada uno de los modelos aplicados, independientemente del apoyo que reciben cada uno de los clados, difieren en las posiciones relativas de los grupos *T. hirsuta*-*T. lythroides*-*T. lanuginosa*-*T. antiatlantica*-*T. virgata*, *T. virescens*-*T. microphylla*, *T. villosa*, *T. argentata*-*T. broteriana*-*T. cordifolia*-*T. procumbens* y *T. calycina*-*T. subrepens*-*T. ruizii*.

Los valores de *bootstrap* calculados con el modelo de Jukes-Cantor (JC) y con LogDet apenas presentan diferencias dignas de mención; con el modelo general-reversible y una tasa evolutiva dependiente de la posición (REV+Γ) son algo más bajos que los obtenidos en los dos casos anteriores, lo cual puede ser atribuido a la mayor varianza de las estimaciones basadas en este último modelo (WADDELL & STEEL, 1997; BUCKLEY & al., 2001). No obstante, esta diferencia nunca llega al 10 %.

Hay que hacer notar también que el apoyo a cualquiera de los clados es casi siempre superior en los análisis efectuados a partir de distancias que en los llevados a cabo sobre los caracteres con peso uniforme y parsimonia. Es llamativa a este respecto la excepción constituida por *Wikstroemia canescens*-*W. alberti*, que con parsimonia obtiene un apoyo superior a 87 % y con distancias no supera en ningún caso 60,5 %.

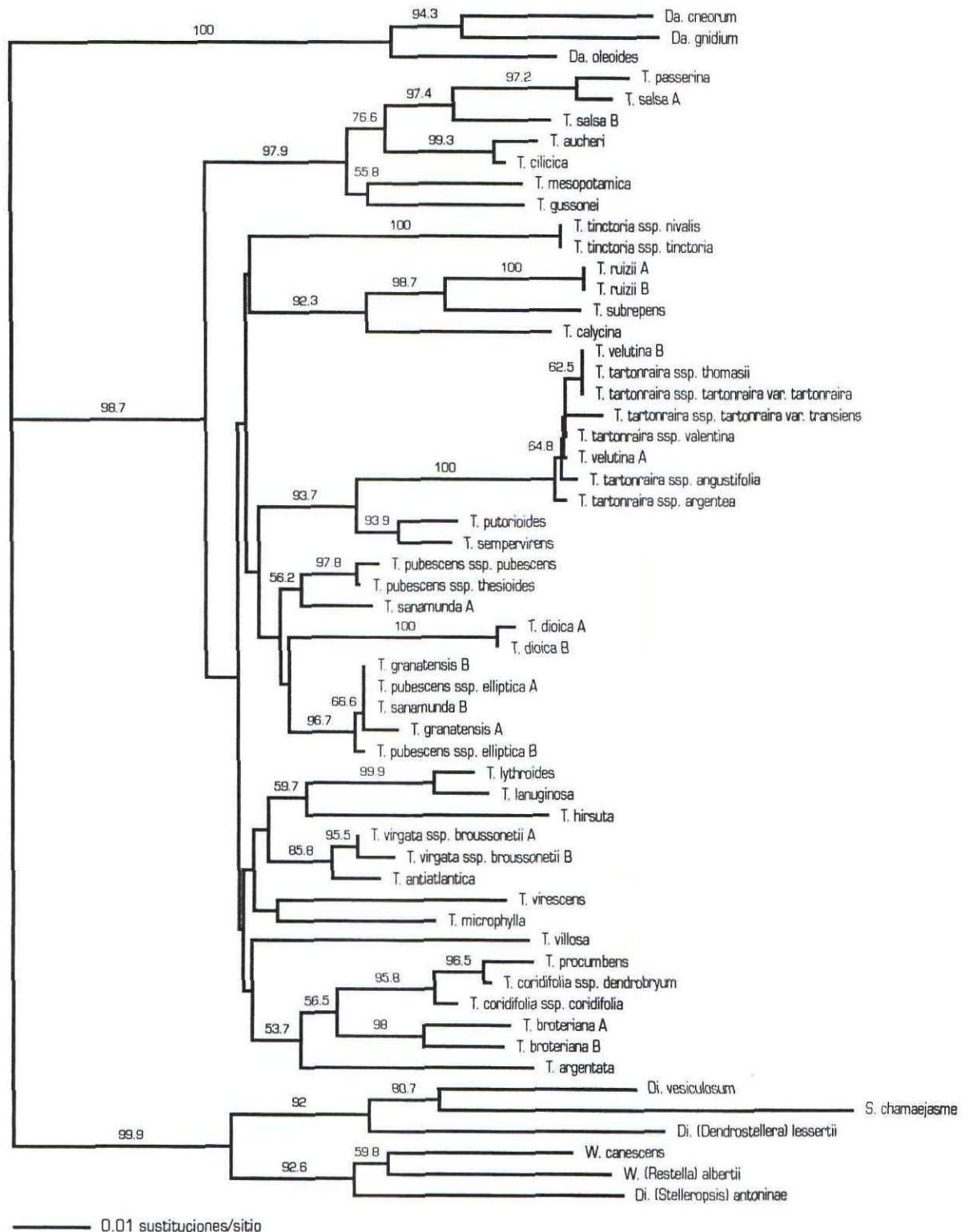


Fig. 4.9. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining* y el algoritmo de Jukes-Cantor. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).



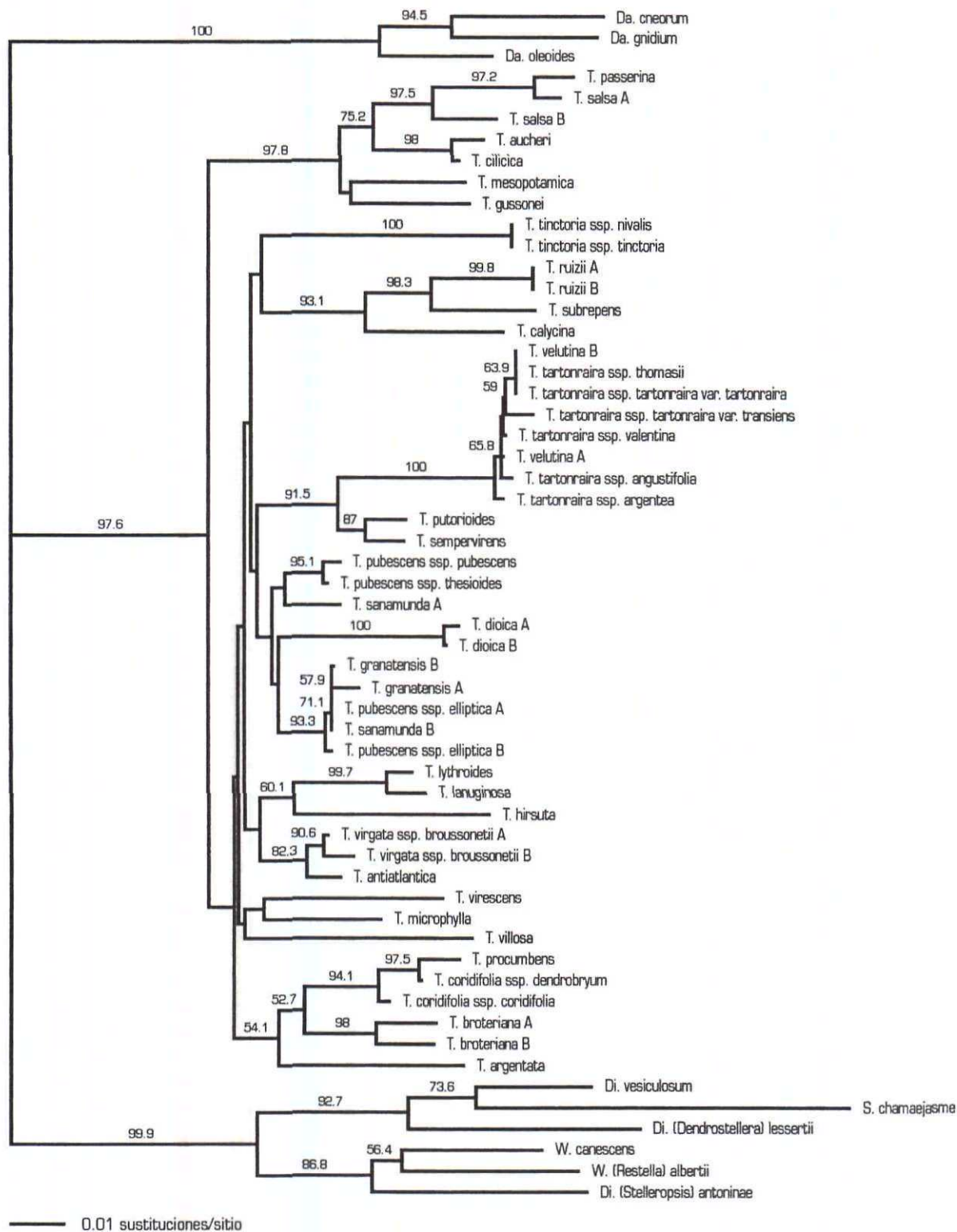


Fig. 4.10. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining* y el modelo de sustitución REV+Γ. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).

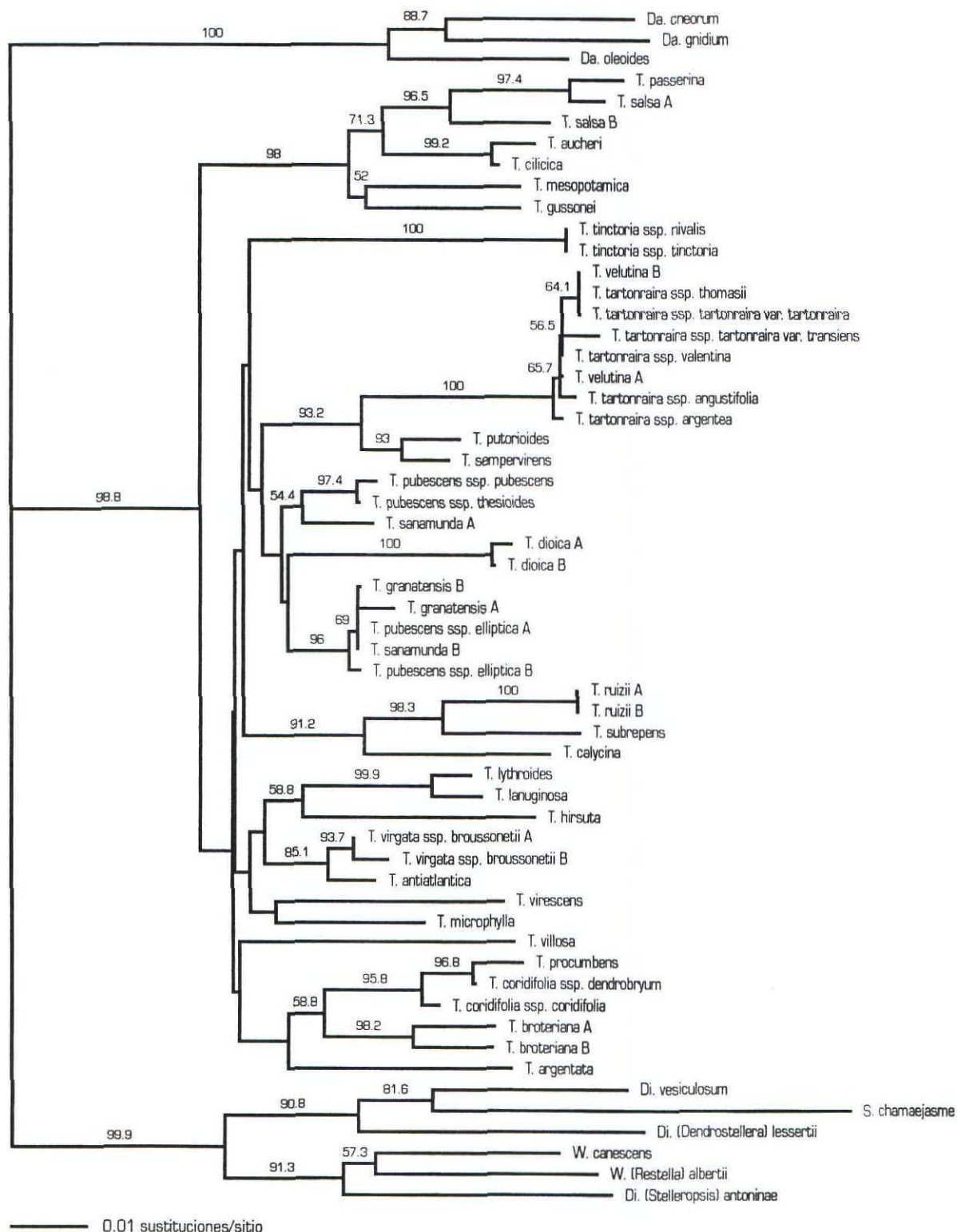


Fig. 4.11. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining* y la transformación LogDet. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).

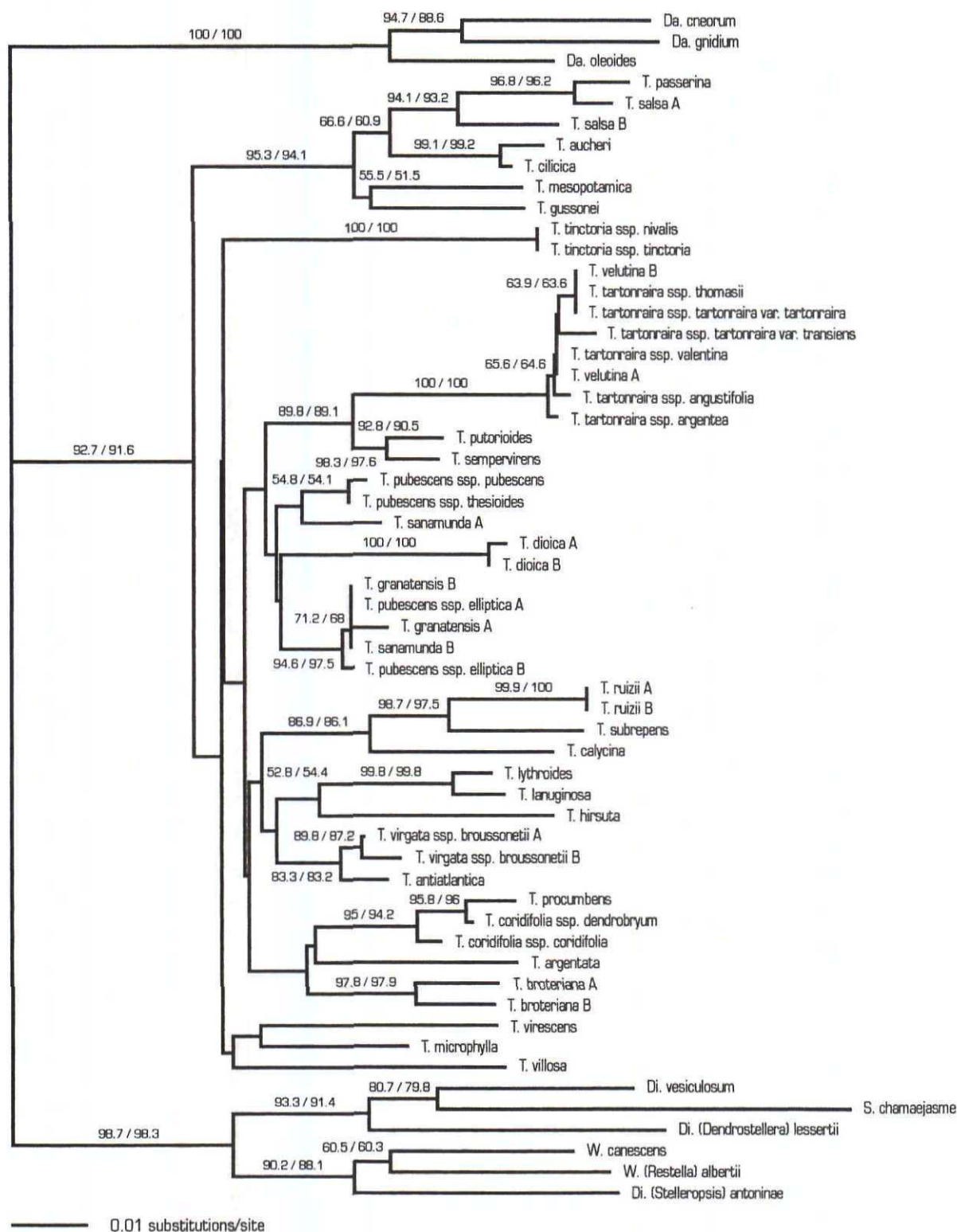


Fig. 4.12. Uno de los nueve árboles obtenidos al analizar la región de los ITS con el criterio de evolución mínima y el algoritmo de Jukes-Cantor (JC). Esta topología se encuentra entre las 48 resultantes del mismo análisis, pero con la transformación LogDet. L (JC): 1,149; L (LogDet): 1,166. Sobre las ramas se indican los valores (*fast*)bootstrap  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 10.000 repeticiones), separados por una barra según se haya aplicado el modelo JC (izquierda) o la transformación LogDet (derecha). Las únicas diferencias entre las topologías



#### 4.2.8.

### Reconstrucción filogenética con el criterio de evolución mínima

La aplicación del criterio de evolución mínima sobre las distancias calculadas con los modelos de Jukes-Cantor (JC), general-reversible (REV) y LogDet dio como resultado la obtención, respectivamente, de 9 (Longitud mínima [L] = 1,149), 18 (L = 1,317) y 48 (L = 1,166) árboles igualmente posibles bajo este criterio. Conviene resaltar, no obstante, que dentro de cada conjunto de árboles las diferencias que se presentan afectan sólo a las relaciones entre las poblaciones de *T. tartonraira*-*T. velutina* y a las relaciones internas del peculiar grupo que domina *T. granatensis*. Respecto a los clados con mejor apoyo relativo sirve decir lo mismo que en el apartado anterior sobre los análisis con el método de *neighbor-joining*. En verdad no existen diferencias entre ambas aproximaciones metodológicas cuando se consideran sólo los grupos con un apoyo superior a 56,5 %. Si acaso se podría señalar la observación de una disminución general, aunque ligera, de los valores de *bootstrap* al utilizar el criterio objetivo.

Las topologías de consenso estricto obtenidas en este análisis con cada modelo se diferencian en las posiciones relativas de los grupos *T. tinctoria*, *T. ruizii*-*T. subrepens*-*T. calycina*, *T. hirsuta*-*T. lythroides*-*T. lanuginosa*-*T. antiatlantica*-*T. virgata* y *T. argentata*-*T. broteriana*-*T. cordifolia*-*T. procumbens* (figs. 4.12 y 4.13). Los árboles basados en el modelo de Jukes-Cantor son topológicamente idénticos a los resultantes de aplicar la transformación LogDet.

[Fig. 4.12 (cont.)] de los 57 árboles se ciñen a las relaciones en los clados de *T. tartonraira*-*T. velutina* y de *T. granatensis*-*T. pubescens* subsp. *elliptica*-*T. sanamunda* B.

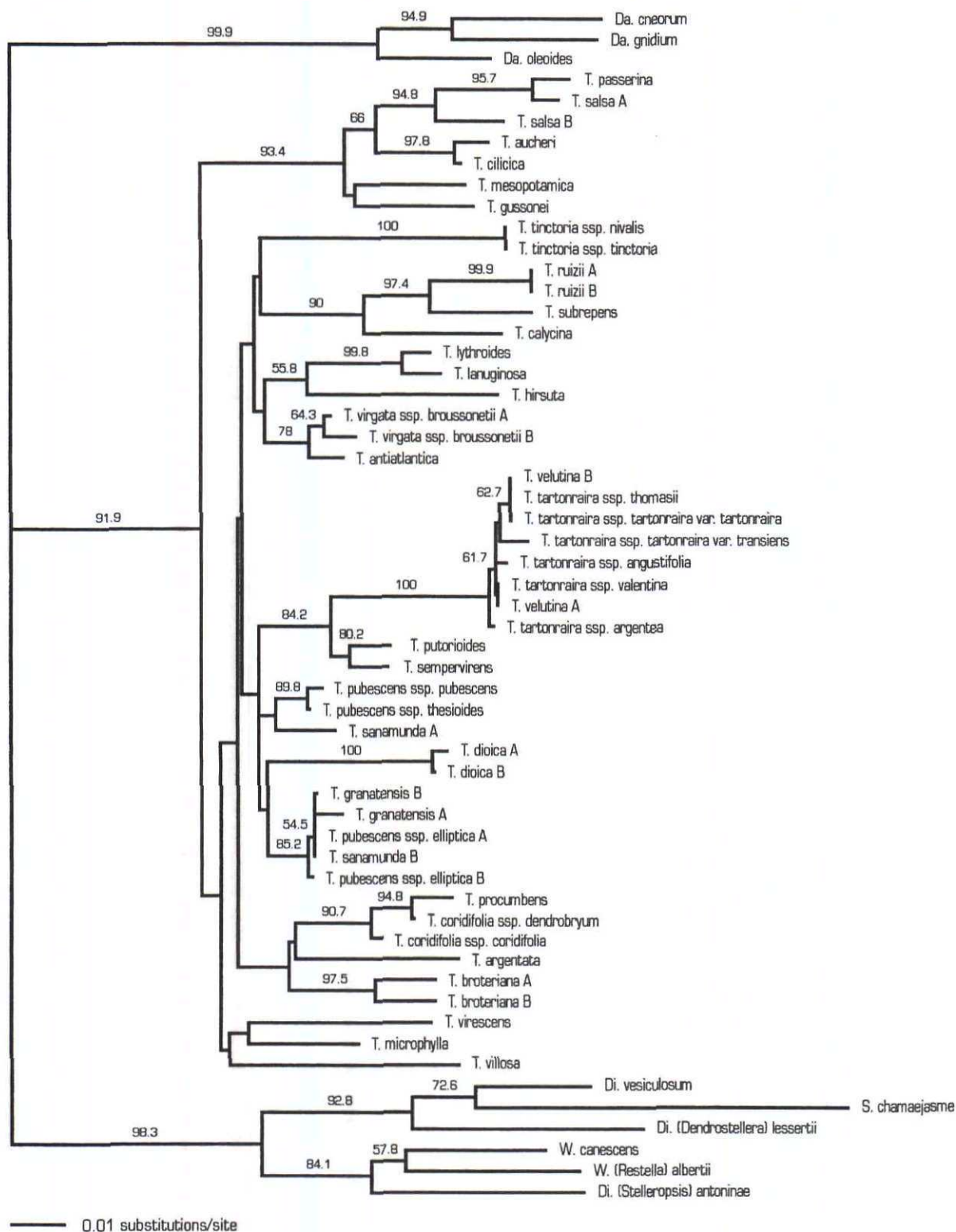


Fig. 4.13. Uno de los 18 árboles obtenidos al analizar la región de los ITS con el criterio de evolución mínima y el modelo de sustitución REV+Γ. Sobre las ramas se indican los valores (fast)bootstrap  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 10.000 repeticiones). L: 1,317. Las únicas diferencias entre las topologías de los 18 árboles se refieren a las relaciones en los clados de *T. tartonraira*-*T. velutina* y de *T. granatensis*-*T. pubescens* subsp. *elliptica*-*T. sanamunda* B.

## 4.2.9.

### Evaluación estadística de la hipótesis de radiación para la diversificación de *Thymelaea* y comparación de topologías

Los resultados del test basado en las indicaciones del estadístico  $g1$  muestran un resultado significativo para una politomía (hipótesis de radiación) que implica a los 17 clados resultantes de colapsar aquellos con débiles apoyos *bootstrap* (<70 %). No obstante, la disminución sucesiva de los clados colapsados descubre que los caracteres informativos se distribuyen de manera aleatoria entre las secuencias cuando se evalúa una politomía de 12 clados ( $g1 = -0,137$ ;  $P < 0,05$ ; fig. 4.5), lo que lleva a aceptar que dicha politomía constituye el límite máximo de resolución permitido por los datos (tab. 4.10). La interpretación de este resultado como reflejo de una diversificación rápida o simultánea de los clados basales de *Thymelaea* se discutirá más adelante con la consideración de evidencias complementarias (pág. 140).

Los resultados del test de Shimodaira-Hasegawa muestran que no existen diferencias significativas entre las topologías comparadas (apéndice 7.6). Ello indica que el poder explicativo de los datos no es suficiente para discriminar, en términos de probabilidad, entre las hipótesis filogenéticas reflejadas en los distintos árboles, a pesar de las diferencias observadas en las verosimilitudes correspondientes a cada topología. Estos resultados permiten establecer dos observaciones importantes: por un lado que, bajo un punto de vista estadístico, no debería prestarse

Nº de táxones (clados) <sup>1</sup>	Nº de caracteres variables (n+i)	$g1$
17	131 (84+47)	- 0,328 *
16	128 (84+44)	- 0,293 *
15	121 (79+42)	- 0,233 *
14	117 (76+41)	- 0,223 *
13	116 (76+40)	- 0,222 *
12	114 (75+39)	- 0,137

Tab. 4.10. Resultados del test que evalúa la hipótesis de radiación ("hard polytomy", *sensu* MADDISON, 1989) a través de la señal contenida en los datos (cf. JACKMAN *Et al.*, 1999). Puesto que en una politomía los datos se distribuyen de manera aleatoria entre los táxones, dicha hipótesis es rechazada para diferencias significativas (\*,  $P < 0,05$ ) en el valor del estadístico  $g1$ .<sup>1</sup> Los táxones que representan los clados integrantes de las supuestas politomías están indicados en la fig. 4.5. n, i: caracteres filogenéticamente no informativos e informativos respectivamente.



mayor confianza a los árboles de máxima parsimonia (513 pasos) que a los árboles alternativos basados en los análisis de distancias, con al menos 5 pasos extra respecto a aquellos; por otro, que el árbol que representa la hipótesis de radiación, en la que se encuentran implicados los doce clados para los que no es posible establecer relaciones de divergencia (fig. 4.5) según indica el test precedente, constituye una hipótesis filogenética igualmente válida para las secuencias analizadas.

#### 4.2.10.

### Relaciones filogenéticas de *Thymelaea* con otros géneros próximos

Con *Gnidia carinata* como grupo externo, el análisis con parsimonia e igual peso para todos los caracteres dio como resultado 248 árboles igualmente posibles de 610 pasos, CI (excluyendo los caracteres no informativos): 0,479 y RI: 0,726. El árbol de consenso estricto que resume las anteriores topologías es idéntico al obtenido sin *Gnidia* respecto a las relaciones en *Thymelaea* (salvo por la inclusión de *T. villosa* en la gran politomía basal) y en los clados definidos por el resto de los géneros considerados en los análisis (fig. 4.14). Los apoyos *bootstrap* son muy similares a los estimados en aquella ocasión. La particularidad de este análisis es que muestra la posición de *Daphne* como grupo hermano de *Thymelaea*, con un apoyo del 85,9 %.

Tras el pesaje sucesivo de caracteres resultó un único árbol (CI [excluyendo los caracteres no informativos]: 0,694, RI: 0,867), idéntico al obtenido sin la nueva secuencia de *Gnidia* por lo que respecta a las relaciones en los tres clados principales diferenciados entonces (*Daphne*, *Thymelaea* y resto de táxones). Las relaciones entre estos tres clados son las mismas que las resultantes tras el análisis sin pesaje diferencial de caracteres, con *Daphne* inmediatamente asociado a *Thymelaea* (apoyo del 100 %) (fig. 4.15). La topología de este único árbol se encuentra entre las 248 de máxima parsimonia generadas sin pesaje diferencial de caracteres.

Con el método de *neighbor-joining* y cualquiera de los modelos de sustitución asumidos se advierten algunas diferencias en los resultados

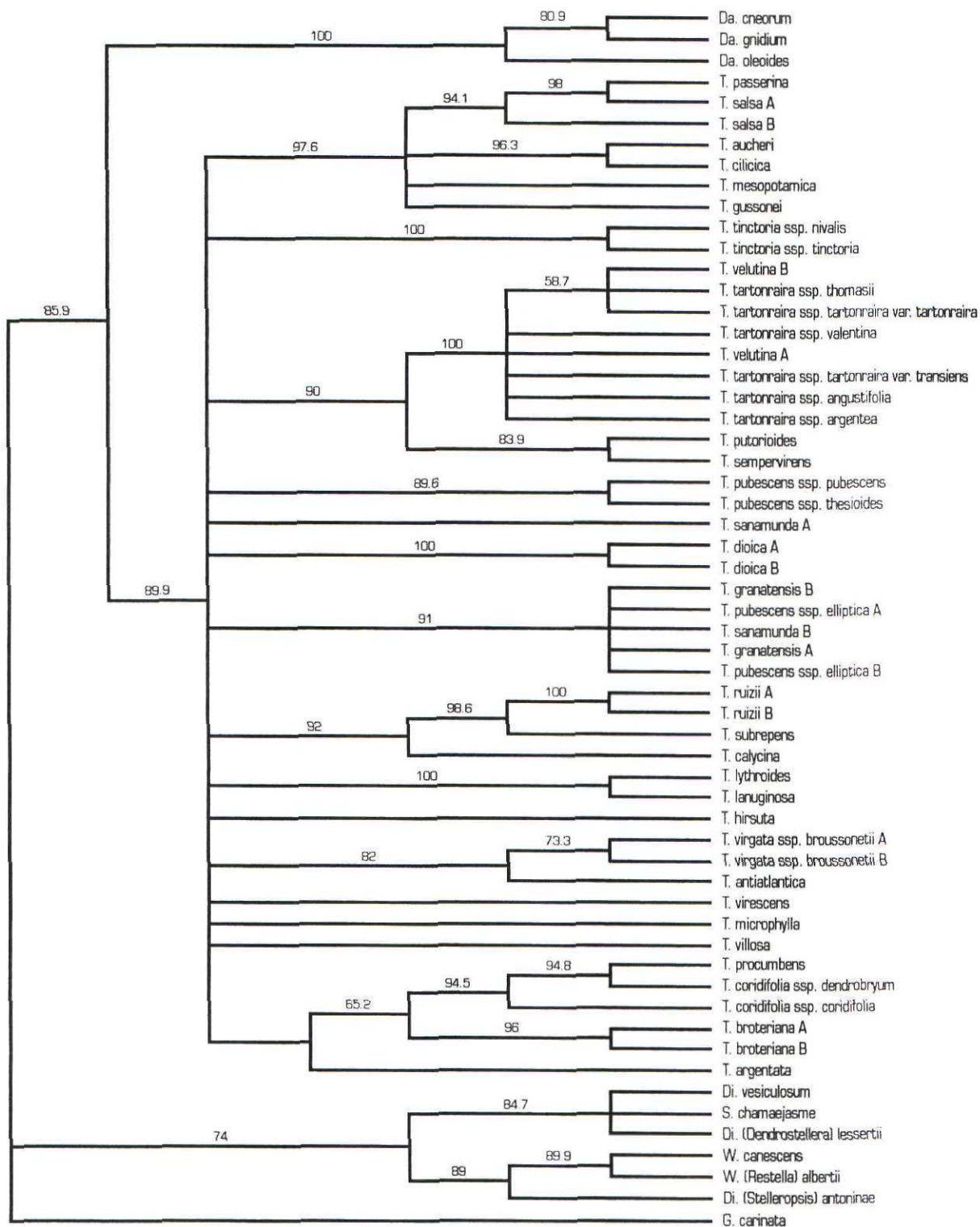


Fig. 4.1. Árbol de consenso estricto de los 248 obtenidos al analizar la región de los ITS con el criterio de parsimonia de Fitch y *Gnidia carinata* como grupo externo. L: 610; CI (excluidos los caracteres no informativos): 479; RI: 726. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 1000 repeticiones).

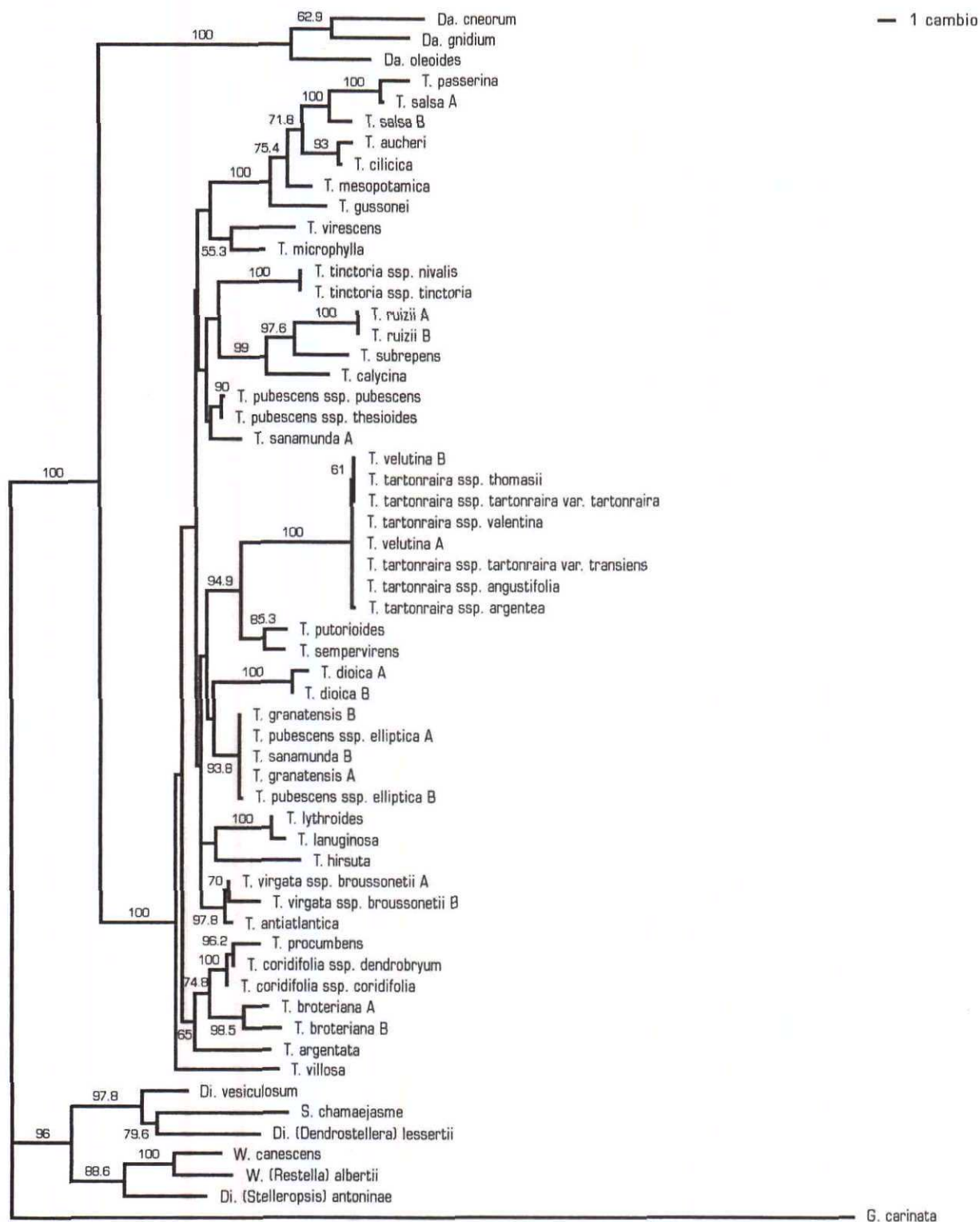


Fig. 4.15. Filograma del único árbol obtenido tras el análisis de la región de los ITS con pesaje sucesivo de caracteres, el criterio de parsimonia de Fitch y *Gnidia carinata* como grupo externo. Esta topología se encuentra entre las 248 resultantes del mismo análisis pero con un peso uniforme para los caracteres. L: 264,833; CI (excluidos los caracteres no informativos): 0,694; RI: 0,867. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 1000 repeticiones).



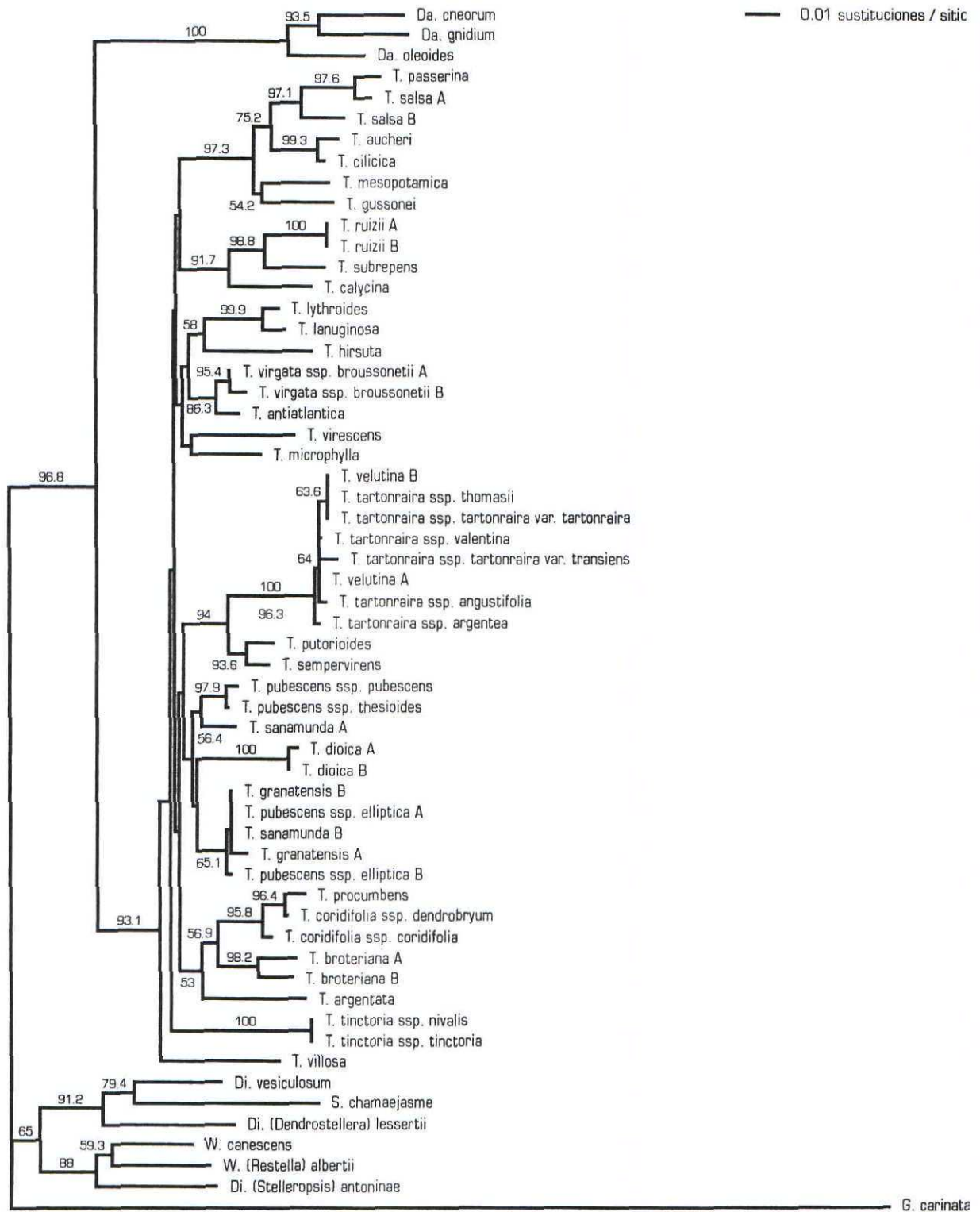


Fig. 4.16. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining*, el algoritmo de Jukes-Cantor y *Gnidia carinata* como grupo externo. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50$  % (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).

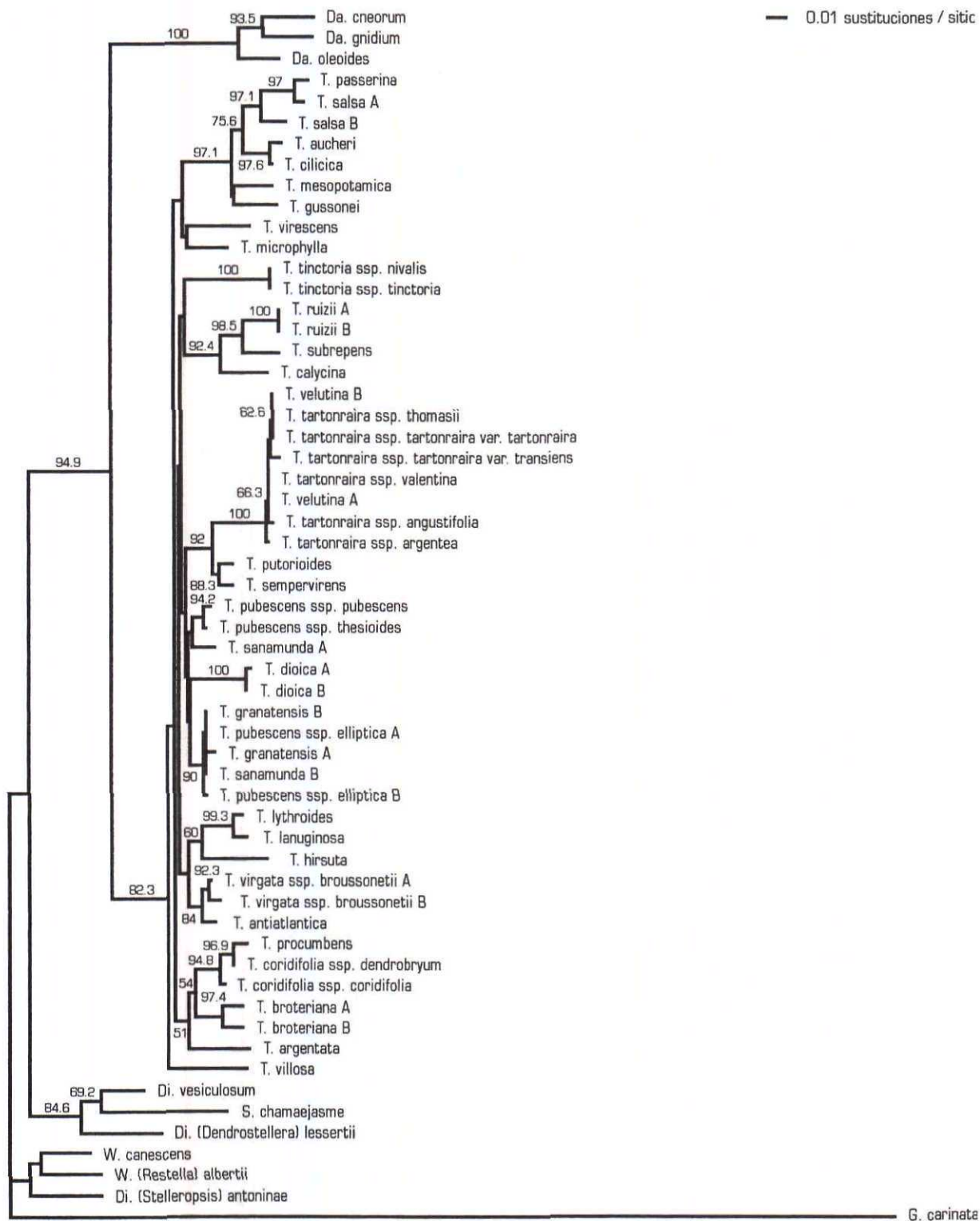


Fig. 4.17. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining*, el modelo de sustitución REV+I<sup>+</sup> y *Gnidia carinata* como grupo externo. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).

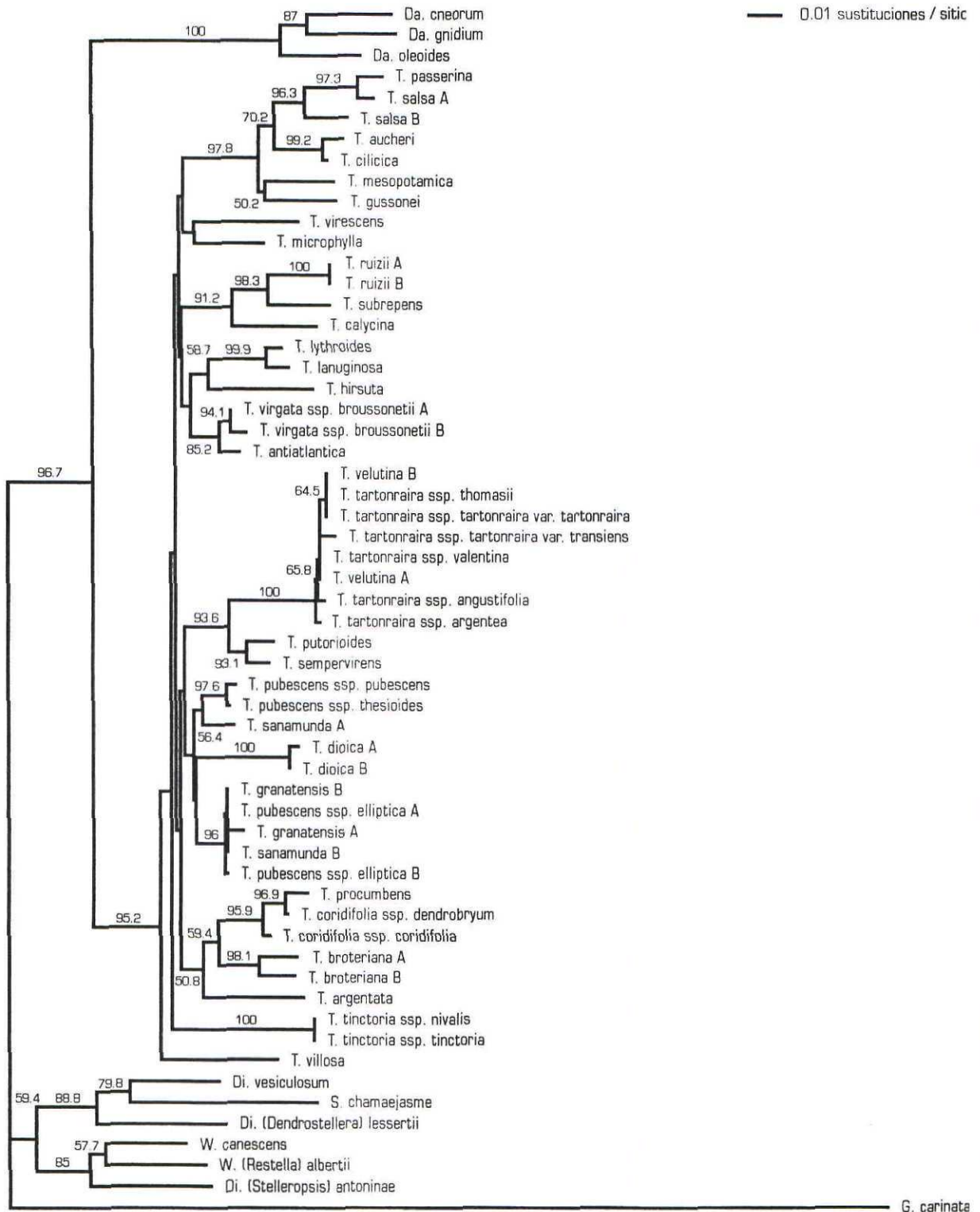


Fig. 4.18. Filograma obtenido al analizar la región de los ITS con el método de *neighbor-joining*, la transformación LogDet y *Gnidia carinata* como grupo externo. Sobre las ramas se indican los valores *bootstrap*  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 10.000 repeticiones).



respecto a los árboles obtenidos sin la presencia de *Gnidia* como grupo externo, pero sólo afectan a grupos con apoyos extremadamente bajos; las coincidencias en cuanto a los grupos presentes en más del 50 % de las réplicas de *bootstrap* son casi plenas, presentándose además unos valores de apoyo muy similares. La única excepción afecta al clado que reúne a *Diarthron*, *Stellera* y *Wikstroemia*, el cual obtiene con la incorporación de *Gnidia* apoyos comparativamente bajos (< 65 %). Dentro de este grupo, sin embargo, se mantienen los apoyos elevados al clado *Stellera chamaejasme*-*Diarthron vesiculosum*-*D. lessertii* (> 84%). La mayor proximidad entre *Daphne* y *Thymelaea* es apoyada nuevamente ( $\geq 95$  %) [figs. 4.16-4.18].

### 4.3.

## Análisis del conflicto entre los conjuntos de datos utilizados

### 4.3.1.

## Índices y tests estadísticos

#### 4.3.1.1.

### Congruencia entre topologías

La distancia PM entre los árboles procedentes de los dos conjuntos de datos comparados oscila entre 52 y 54. Teniendo en cuenta que los valores extremos que puede tomar esta medida para el número de táxones considerado son 0 y 70 ( $2N-6$ ,  $N$ : número de táxones), se puede convenir que la discordancia entre dichos árboles es elevada. Por otro lado, al comparar los valores anteriores con los obtenidos para árboles aleatorios se ha observado que, aunque caen dentro de este espectro de valores, la probabilidad de obtener un valor PM igual o menor a 54 es significativamente pequeña ( $P < 0,01$ ) y, por tanto, se debe reconocer una similitud mayor a la que se podría esperar simplemente por azar (fig.

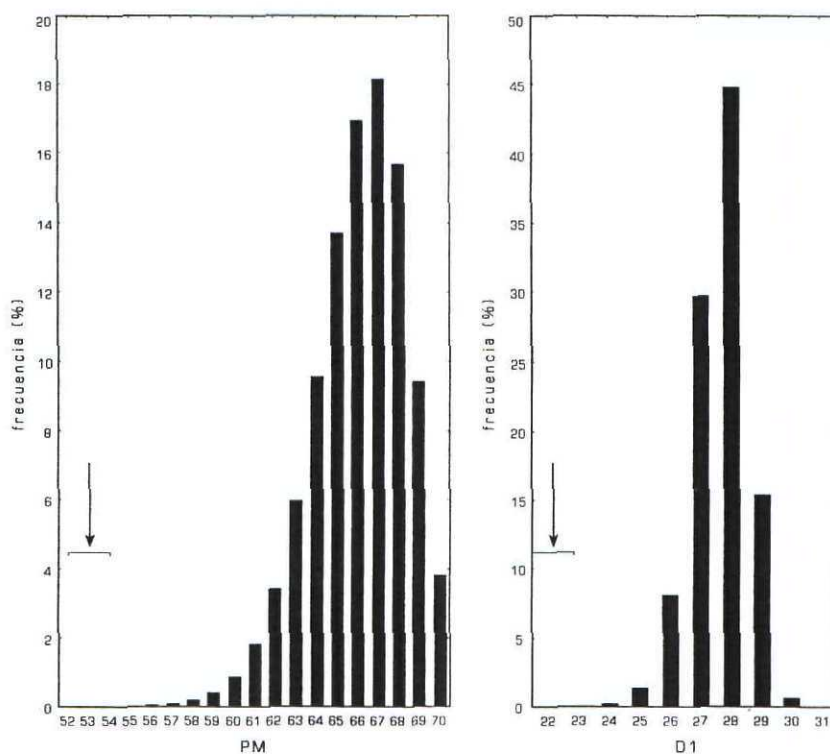


Fig. 4.19. Distribuciones nulas de las distancias PM (*partition metric*) y D1 (*greatest agreement subtree*) calculadas al comparar los árboles de máxima parsimonia obtenidos a partir de matrices aleatorizadas de cada conjunto de datos (morfológicos y moleculares). Las flechas indican los valores observados al comparar los árboles de máxima parsimonia procedentes de los conjuntos de datos sin transformar.

Tab. 4.11. Resultados de los tests de rangos con signo de Wilcoxon empleados para evaluar el apoyo estadístico que recibe la topología de consenso "majority rule  $\geq 70\%$ " ofrecida por el conjunto de datos alternativo. n+/ n-: número de caracteres que incrementan/disminuyen la cantidad de pasos al ser evaluados sobre la topología alternativa. N: número de rangos. Ts: estadístico del test (suma de rangos de los caracteres n-). \* rechazo significativo de la hipótesis nula ( $P<0,05$ ).

Conjunto de datos	n +	n -	N	Ts	P
Morfológicos	14	3	17	29	0,0233 *
Moleculares	101	0	101	0	< 0,0001 *

4.19).

Los resultados obtenidos con el índice D1 permiten una interpretación concordante con la anterior. En este caso es necesario eliminar entre 21 y 23 táxones (de un total de 38) para hacer coincidir las topologías asociadas a los dos conjuntos de datos considerados. La comparación con árboles aleatorios muestra asimismo un rechazo muy significativo ( $P<0,01$ ) de la hipótesis nula (similitud casual) (fig. 4.19).

4.3.1.2.  
Homogeneidad de los datos

El test de homogeneidad de las particiones (*partition homogeneity test*) rechaza significativamente la hipótesis nula de homogeneidad en los datos ( $P<0,002$ ), lo que sugiere que la información filogenética que aportan resulta estadísticamente incongruente y, por tanto, el análisis combinado de los dos conjuntos de datos no es apoyada.

Las pruebas de rangos con signo de Wilcoxon descubren, como en el caso anterior, una conflictividad significativa ( $P\leq 0,0233$ ) entre los conjuntos de datos comparados. Expresado de otro modo, ninguno de ellos presta un apoyo significativo a las topologías ofrecidas por el conjunto de datos alternativo, lo que se entiende es consecuencia de una información filogenética heterogénea en los datos combinados. En la tabla 4.11 se muestran los resultados de estas pruebas. En ella se observa el desequilibrio considerable que existe en el balance de ganancia y pérdida de pasos (columnas n+ y n-) cuando se evalúan los caracteres correspondientes a cada conjunto definido de datos sobre la topología alternativa. Se puede apreciar también que el rechazo de los caracteres moleculares al clado discordante presentado por los datos morfológicos (el correspondiente a la sección *Chlamydanthus*) es muy significativo ( $P<0,0001$ ). Este hecho contrasta con la significación no excesivamente elevada en el test que evalúa la acomodación de los caracte-



res morfológicos a los grupos apoyados por los caracteres moleculares ( $P=0,0233$ ).

#### 4.4.

### Análisis filogenético basado en el combinado de caracteres morfológicos y moleculares

El análisis de la matriz combinada de caracteres dio lugar a dos árboles igualmente posibles bajo el criterio de parsimonia (L: 620; CI [excluidos los caracteres no informativos]: 0,483; RI: 0,665). La única diferencia entre ambos se refiere a las posiciones relativas de *Diarthron vesiculosum*, *D. lesserti* y *Stellera chamaejasme* en el grupo externo (fig. 4.20). Respecto al grupo interno, esta topología es incongruente con cualquiera de las obtenidas por separado con cada conjunto de datos, representando una mezcla, en apariencia bastante equilibrada, de los consensos respectivos de estas últimas. Este hecho es fácilmente explicable por el escaso apoyo que tuvieron en ambos casos las relaciones en los niveles más profundos del grupo interno. Los siguientes clados son los únicos comunes en los resultados de los tres análisis: el correspondiente a la sección *Ligia*, *Thymelaea pubescens*-*T. sanamunda*, *T. lythroides*-*T. lanuginosa*, *T. tartonraira*-*T. velutina* y *Daphne cneorum*-*D. gnidium*. Teniendo en cuenta sólo los grupos mejor apoyados (con valores *bootstrap* superiores a 60 %), éstos coinciden con los que se obtuvieron al aplicar *bootstrap* a los caracteres moleculares. Únicamente aparece como novedad en el árbol de consenso "majority rule 50 %", con una frecuencia de 78,8 %, el clado *T. sanamunda*-*T. pubescens*. Por lo demás, los valores de apoyo apenas muestran cambios sobresalientes respecto a este mismo conjunto de caracteres; si acaso, merece la pena resaltar el descenso notable del apoyo a los siguientes grupos: *T. tartonraira*-*T. velutina*-*T. putorioides*-*T. sempervirens* (diferencia de casi un 24 %), *Wikstroemia canescens*-*W. albertii*-*Diarthron antoninae* (diferencia próxima a 26 %), y el incremento del apoyo a *T. antiatlantica*-*T. virgata* (diferencia de 17 %).

La señal filogenética, tal y como es medida por el estadístico  $g_1$ , se mantiene relativamente elevada para la matriz combinada ( $g_1 = -0,8603$ ), si bien disminuye algo respecto a la cuantificada para la partición correspondiente a los datos moleculares ( $g_1 = -0,9706$ ).

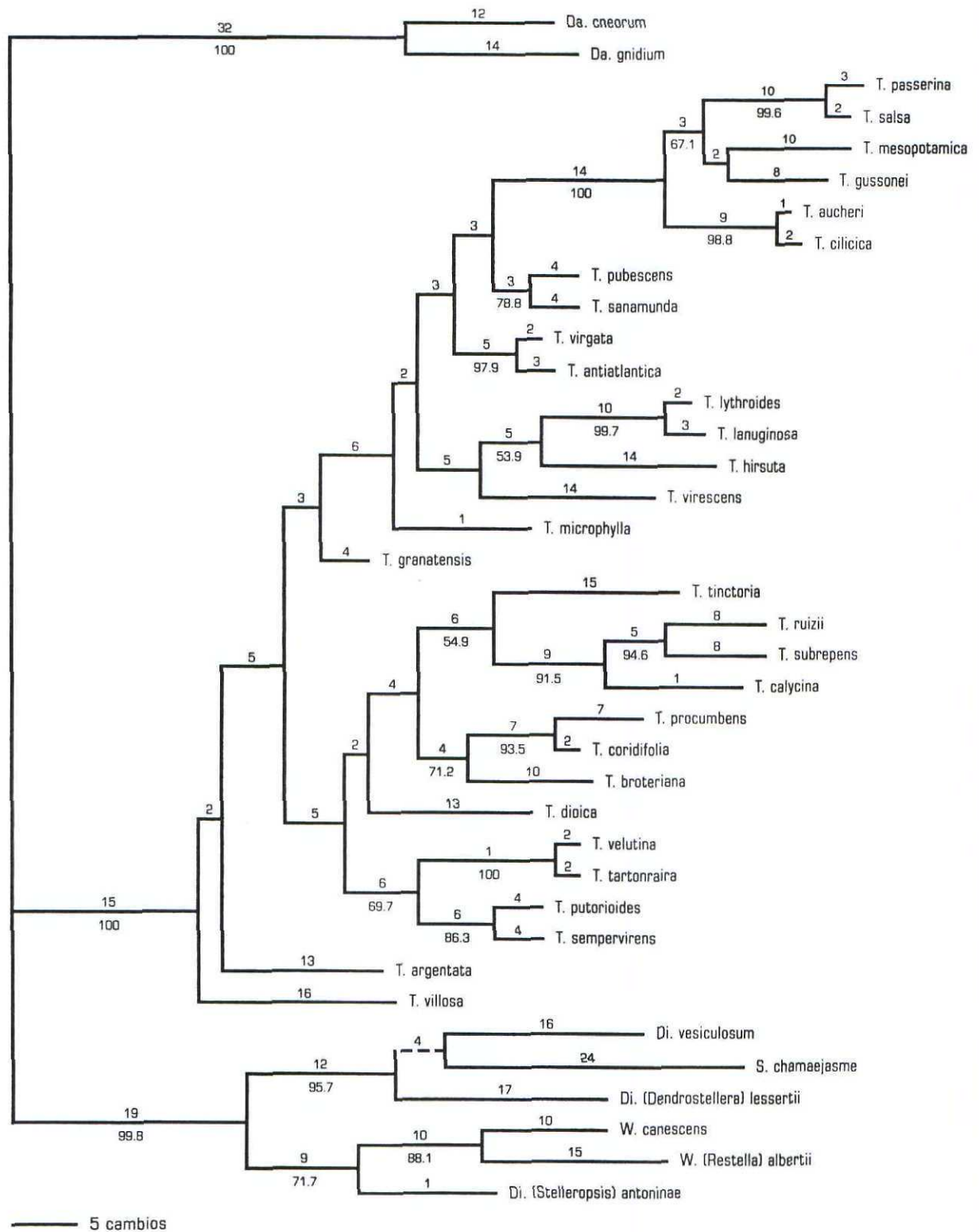


Fig. 4.20. Uno de los dos árboles obtenidos al analizar el combinado de datos morfológicos y moleculares con el criterio de parsimonia de Fitch. L: 620; CI (excluidos los caracteres no informativos): 483; RI: 665. Con trazo discontinuo se ha señalado el clado que no aparece en el árbol de consenso estricto. Sobre las ramas está indicada su longitud y debajo de ellas los valores *bootstrap*  $\geq 50\%$  (porcentaje sobre 1000 repeticiones).



#### 4.5.

### Asignación de una escala temporal a la diversificación de *Thymelaea*

Tal y como quedó expuesto en el apartado de metodología, la datación de los sucesos de divergencia más robustos y consistentes se realizó mediante la conversión a unidades de tiempo de las distancias REV+I, por un lado, y de las longitudes de las ramas calculadas mediante máxima verosimilitud, con el modelo REV+I y forzando reloj molecular, por otro. En la tabla 4.12 se muestran los resultados de las mencionadas dataciones con cada una de las tres tasas de sustitución empleadas.

Respecto a estos resultados, es necesario aclarar que las estimaciones obtenidas considerando cualquiera de las topologías generadas por los métodos de análisis filogenético utilizados son idénticas o muy similares entre sí, por lo que sólo se indican aquellas efectuadas sobre una de ellas [fig. 4.21]. La misma aclaración sirve a la consideración de los distintos modelos de sustitución aplicados al cálculo de distancias. El resultado más discrepante entre las estimaciones realizadas sobre las diferentes topologías es el correspondiente a la datación del nodo A (diversificación de *Thymelaea*) en los árboles de distancias, algo previsible a tenor de la distinta composición de los clados que confluyen en este nodo respecto a las demás topologías consideradas; sin embargo, la disparidad es despreciable (aproximadamente un millón de años más) si se

**Tab. 4.12.** Datación de los eventos de divergencia designados por los nodos O, A, B, C, D y E (Fig. 4.21). Se da la longitud de las ramas correspondientes a cada nodo estimada mediante máxima verosimilitud y forzando reloj molecular,  $\pm$  el doble de su error estándar, la distancia media entre los táxones que confluyen en cada nodo,  $\pm$  el doble de su desviación típica, y la conversión de estos valores en unidades de tiempo (millones de años) con cada una de las tasas de sustitución consideradas.  $T_0$ ,  $T_w$  y  $T_e$ : tiempo estimado asumiendo una tasa de  $5,3 \times 10^{-9}$ ,  $4,5 \times 10^{-10}$  y  $2,3 \times 10^{-8}$  sustituciones/sitio/año, respectivamente.

	O	A	B	C	D	E
Longitud	0,0964 $\pm$ 0,0229	0,0492 $\pm$ 0,0128	0,0242 $\pm$ 0,0067	0,0252 $\pm$ 0,0088	0,0240 $\pm$ 0,0106	0,0264 $\pm$ 0,0108
$T_0$ (ma)	18,1 $\pm$ 4,3	9,2 $\pm$ 2,1	4,5 $\pm$ 1,2	4,7 $\pm$ 1,6	4,5 $\pm$ 2	4,9 $\pm$ 2
$T_w$ (ma)	214,3 $\pm$ 50,9	109,3 $\pm$ 25,1	53,8 $\pm$ 15	56 $\pm$ 19,5	53,5 $\pm$ 23,5	58,6 $\pm$ 24
$T_e$ (ma)	4,1 $\pm$ 0,9	2,1 $\pm$ 0,4	1 $\pm$ 0,2	1 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,4
Distancia	0,1901 $\pm$ 0,0369	0,0923 $\pm$ 0,02	0,0551 $\pm$ 0,0103	0,0578 $\pm$ 0,0037	0,0449 $\pm$ 0,0066	0,0493 $\pm$ 0,0203
$T_0$ (ma)	17,9 $\pm$ 3,4	8,7 $\pm$ 2,7	5,2 $\pm$ 0,9	5,4 $\pm$ 0,3	4,2 $\pm$ 0,6	4,6 $\pm$ 1,9
$T_w$ (ma)	211,2 $\pm$ 41	102,6 $\pm$ 32,5	61,3 $\pm$ 11,4	64,2 $\pm$ 4,1	49,9 $\pm$ 7,3	54,8 $\pm$ 22,5
$T_e$ (ma)	4 $\pm$ 0,7	1,9 $\pm$ 0,6	1,1 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	1 $\pm$ 0,4

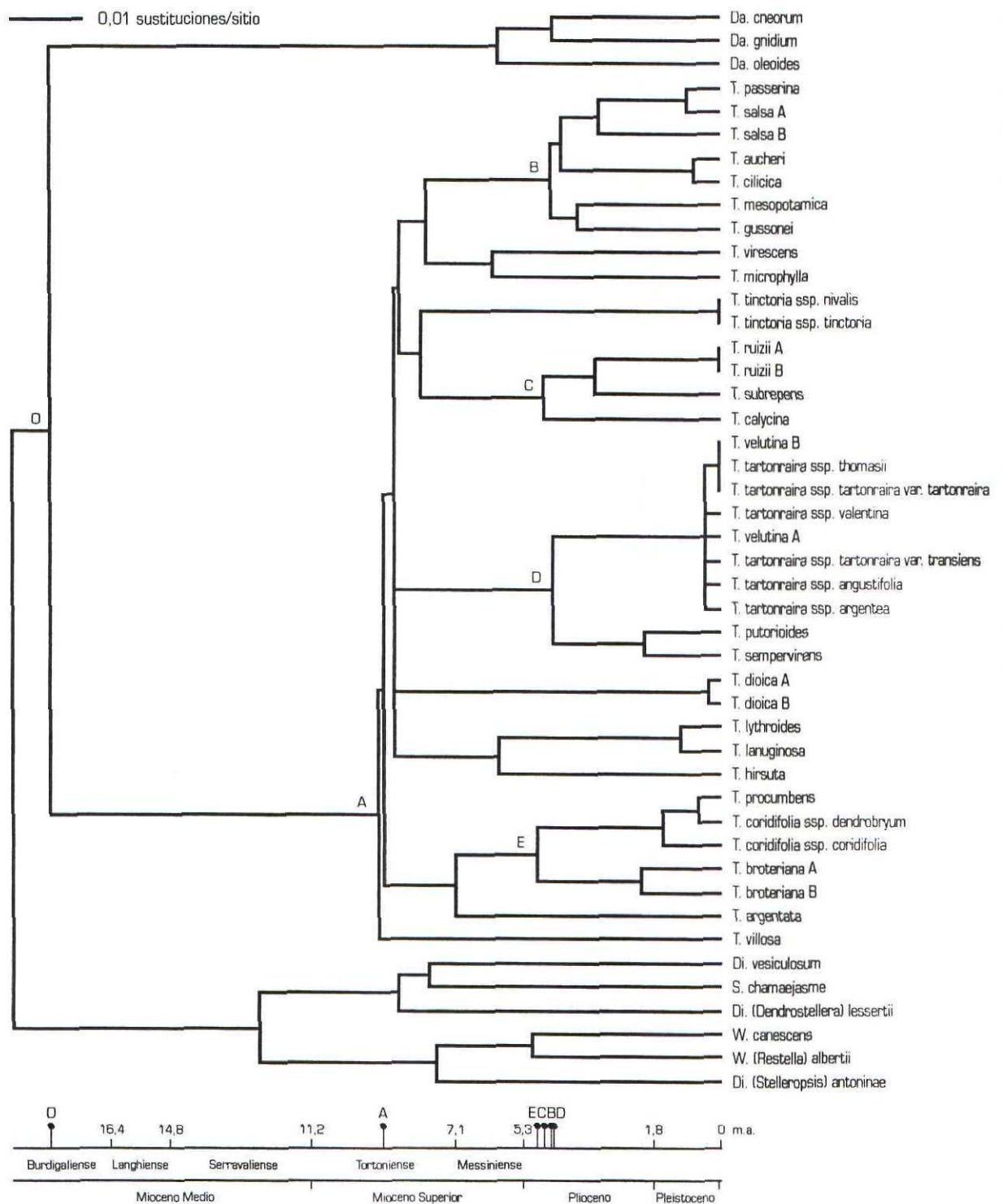


Fig. 4.21. Filograma del árbol de máxima parsimonia mostrado en la fig. 4.5 asumiendo una tasa de sustitución homogénea para todas las líneas evolutivas (reloj molecular), excepto para las que conducen a *T. granatensis*, *T. pubescens*-*T. sanamunda* y *T. antiatlantica*-*T. virgata*, las cuales se han excluido por haber revelado una desviación significativa en dicha tasa respecto al resto de las líneas. La longitud de las ramas es la estimada con PAML bajo el modelo de sustitución REV+I. Se indican los nodos para los que se han aproximado dataciones y su posición en la escala temporal ajustada según la tasa evolutiva estimada para *Gossypium* (WENDEL *et al.*, 1995). La geocronología representada es la propuesta por BERGGREN *et al.* (1995).

tienen en cuenta los errores asociados a las estimaciones y el amplio intervalo definido por las tasas de sustitución que se manejan.



## **5. DISCUSIÓN**

## 5.1.

### Causas del conflicto entre las hipótesis filogenéticas

Al contrario de lo que se podría esperar, cuando se analizan independientemente conjuntos de datos distintos para un mismo grupo de táxones es frecuente observar resultados discrepantes con cada uno de ellos (v. WENDEL & DOYLE, 1998). Esta afirmación es aparentemente corroborada por los resultados obtenidos en el presente trabajo. Los índices de incongruencia entre topologías aplicados muestran además que ésta es considerable, si bien existen concordancias que no se pueden atribuir al azar en un sentido estadístico y, por tanto, hacen sospechar de ciertas similitudes en el patrón filogenético de los dos conjuntos de datos. Este último resultado no es sorprendente cuando se presume un origen común para ambos conjuntos de caracteres (SWOFFORD, 1991); sin embargo, sí resulta llamativo encontrar que los valores de incongruencia calculados caen dentro de la distribución estimada de valores aleatorios (fig. 4.19) (cf. JOHNSON & SOLTIS, 1998).

En el nada fácil intento de encontrar una explicación al conflicto entre conjuntos definidos de datos, es preciso aclarar ante todo si las discrepancias observadas entre las hipótesis filogenéticas responden o no a un fenómeno biológico, puesto que sólo en caso afirmativo se podrán considerar significativas o auténticas, es decir, reflejo de trayectorias evolutivas diferentes.

Una indicación de que tras las discrepancias observadas subyacen probablemente diferentes historias evolutivas para cada conjunto de datos es encontrar apoyos elevados a los clados en conflicto. En el caso estudiado esto no ocurre, pues en los análisis de *bootstrap* con los datos morfológicos no se obtienen grupos con apoyos superiores a 70 %, e incluso son muy escasos los que superan el 50 %. A este respecto, sin embargo, conviene recordar que existe un apoyo considerable al grupo identificado con la sección *Chlamydanthus* tras el pesaje de caracteres que es rechazado significativamente por los datos moleculares (fig. 4.11). Hay que señalar, además, que la ausencia de valores de apoyo elevados puede atribuirse, al menos en parte, al bajo número de caracteres que corresponden a este tipo de datos (BREMER & *al.*, 1999), así que dicho indicador no resulta aquí todo lo informativo que podría ser. El contar con un número reducido de datos es, precisamente, un factor a tener

en cuenta al analizar la discordancia de genealogías. Efectivamente, es posible que ésta se deba a un error de muestreo, en cuyo caso tal discordancia sería más aparente que real. Una observación que abunda en esta posibilidad, referida ahora a los datos moleculares, es la existencia de internodos cortos en niveles profundos del grupo interno, lo que denota la limitación de la secuencia para proveer de un número suficiente de cambios a dichos internodos. SEELANAN & *al.* (1997) apuntan acertadamente a este fenómeno como causa frecuente de incongruencia entre topologías. De todos modos, la incongruencia no se limita a los niveles indicados de la filogenia, sino que se encuentra bastante generalizada. Por otro lado, conviene recordar que en lo que toca a los táxones el muestreo ha sido prácticamente exhaustivo, al recogerse todas las especies de *Thymelaea* en el caso de los caracteres morfológicos y todas menos una en el caso de los moleculares. Como colofón a este punto, el test estadístico que evalúa la homogeneidad de los datos (*partition homogeneity test*) arroja un resultado significativo, lo que debilita la posibilidad de que el error de muestreo sea, cuando más, el único responsable de las discrepancias encontradas. DOLPHIN & *al.* (2000) advierten, no obstante, de lo poco definitiva que resulta la interpretación de este test debido a la influencia de la aleatoriedad ("ruido") indefectiblemente asociada a cada matriz de datos. Su utilidad práctica es rechazada asimismo por YODER & *al.* (2001) y DOWTOW & AUSTIN (2002).

Hasta el momento se ha considerado únicamente la posibilidad de que el conflicto observado se deba, en esencia, a una insuficiente cantidad de datos; pero también puede generar filogenias discordantes una deficiente adecuación de las herramientas de análisis filogenético empleadas a los caracteres en uso. Existen, en efecto, ciertas propiedades evolutivas de los caracteres, como el sesgo en la composición en bases nitrogenadas, una tasa de sustitución heterogénea en la secuencia o una tasa evolutiva no homogénea para todos los táxones, que, si no son tenidas en cuenta al aplicar los análisis, pueden favorecer falsas genealogías (WENDEL & DOYLE, 1998). En el presente caso se detectó un sesgo significativo en la composición en bases de los ITS, que afecta principalmente a *Daphne*; sin embargo, no parece que éste tenga un efecto perceptible en la reconstrucción filogenética, a juzgar por el resultado obtenido al transformar los datos (mediante la transformación LogDet) para corregir dicha desviación. La heterogeneidad en la secuencia de la tasa de sustitución, aun sin ser extrema, se tuvo en cuenta incorporándola a uno de



los modelos de sustitución asumidos (REV+Γ). Por lo que respecta a las diferencias entre los táxones de las tasas evolutivas, los tests estadísticos llevados a cabo utilizando los caracteres moleculares (test del reloj molecular basado en la razón de verosimilitudes y test de Tajima) permiten asumir que no son significativas para la gran mayoría de las comparaciones. Con los caracteres morfológicos no existe un modo riguroso de evaluar estas diferencias, pero el que no existan grandes desproporciones en la longitud de las ramas de los filogramas obtenidos a partir de estos datos (fig. 4.1) indica que no deben ser importantes. Las propiedades de los datos permiten entonces apoyar los modelos asumidos, por lo que no parece acertado atribuir a cualquiera de los factores señalados la responsabilidad de las discrepancias observadas.

La calidad de los datos es un aspecto más a considerar en la búsqueda de posibles causas de incongruencia entre hipótesis filogenéticas. Cuando el contenido en homoplasia (conflictividad de los caracteres en el cladograma) es elevado, la señal filogenética de los datos se ve normalmente disminuida, de modo que las posibilidades de que éstos apoyen relaciones de parentesco erróneas pueden ser notables. Los índices de consistencia (CI) y de retención (RI) son medidas instantáneas ampliamente utilizadas como indicadoras del nivel de homoplasia; sin embargo, su eficacia a este respecto se considera reducida (ARCHIE, 1996) y su dependencia del número de táxones hace que sean inapropiadas con fines comparativos. A ello hay que añadir que las relaciones filogenéticas pueden resultar más o menos ambiguas en función del reparto de la conflictividad, no sólo de su magnitud (cf. WILKINSON, 1991; DONOGHUE & SANDERSON, 1992). Objetivamente, lo más que se puede decir en el caso que nos ocupa es que, tal como son los valores de los índices mencionados y el número de táxones estudiados, el contenido en homoplasia no es extremo en ninguno de los dos conjuntos de caracteres (morfológicos, CI: 0,600, RI: 0,784; moleculares, CI: 0,479, RI: 0,665).

Un modo algo menos directo de conocer la señal filogenética de los datos, pero que no presenta las anteriores limitaciones, es atender a las indicaciones del estadístico  $g^1$ . Los valores que toma éste para cada conjunto de caracteres muestran que en ambos existe señal filogenética y que en los caracteres moleculares es considerablemente mayor (-0,9706 y -0,3344, calculados para las matrices que contienen sólo los táxones comunes a los dos conjuntos de caracteres). Si ambos tipos de datos forman un conjunto filogenéticamente homogéneo es de esperar

que éste vea incrementada su señal filogenética respecto a cada conjunto por separado; pues bien, el valor que toma  $g1$  para la matriz combinada de caracteres  $(-0,8603)$  indica, contrariamente, una reducción apreciable de la señal con relación a la contenida en los datos moleculares. Semejante resultado es interpretable como reflejo de genealogías discordantes, es decir, que la combinación de conjuntos de caracteres con estructuras jerárquicas incongruentes genera suficiente homoplasia como para provocar una caída de la señal filogenética en la matriz combinada. Ésta es una interpretación posible, aunque no se puede descartar que de la combinación de caracteres surjan otras fuentes de conflicto que provoquen el mismo efecto sobre la señal filogenética (v. DOYLE, 1996). Así todo, en apoyo de la interpretación precedente se puede esgrimir que el pesaje de caracteres, favoreciendo la señal filogenética atribuible a los caracteres menos homoplásicos, no logra mejorar la compatibilidad de las topologías apoyadas por cada conjunto de datos, lo que sugeriría que el exceso de homoplasia no es del todo responsable de la discordancia observada entre dichas topologías.

Con independencia del peso que se pueda asignar a la conflictividad interna de cada conjunto de datos, la naturaleza real o aparente de la incongruencia manifestada entre ellos sólo se verá aclarada por dicho factor si es posible desvelar su origen. Éste es un asunto difícil de tratar, pues, como sucede en otros casos, no se tienen más que someras indicaciones apuntando en uno u otro sentido. Por ejemplo, puede ser que parte de la homoplasia observada sea el resultado de errores en la interpretación de la homología de los caracteres (homología primaria, *sensu* DE PINNA, 1991), más que de convergencias, paralelismos o reversiones ocurridas de hecho en la historia evolutiva. En el caso de los caracteres moleculares la homología viene determinada por el alineamiento de las secuencias, cuyo procedimiento es complejo y está frecuentemente cargado de incertidumbres; a este respecto hay que recordar, sin embargo, que no se presentaron ambigüedades importantes en el alineamiento de las secuencias estudiadas una vez que se excluyó el fragmento más problemático. Las hipótesis de homología para los caracteres morfológicos, aunque se presumen adecuadas, se apoyan en conocimientos biológicos que no siempre son todo lo precisos y objetivos que cabría desear, de manera que no se puede descartar que existan malinterpretaciones. El reconocimiento de estos errores de observación constituye un nuevo obstáculo a intentar superar. Un ajuste notoriamente deficiente de un carác-



ter dado a la reconstrucción filogenética puede apuntar a un error en la hipótesis de homología presumida para ese carácter. En la práctica, sin embargo, la identificación de tales errores se complica debido a que ello requiere que la reconstrucción filogenética se vea justificada por un número suficiente de caracteres efectivamente homólogos, evitando así que la señal filogenética quede desfigurada. Ya se vio que en los caracteres morfológicos la señal filogenética era más bien baja, por lo que la aplicación de este mecanismo de reconocimiento no dará resultados fiables. Con todo, se llevó a cabo el escrutinio de dichos caracteres sobre los cladogramas correspondientes y se observó que sólo cinco presentan un ajuste perfecto ( $ci=1$ ) y, por tanto, están libres de homoplasia. Recurriendo a un planteamiento similar y aprovechando que los caracteres moleculares contienen una fuerte señal filogenética, existe la posibilidad de testar la homología de los caracteres morfológicos frente a los moleculares llevando a cabo un análisis simultáneo de todos ellos (PATTERSON, 1988). Esta operación, sin embargo, no resulta efectiva si los caracteres morfológicos reducen o confunden la señal filogenética mostrada por los caracteres moleculares, lo que a todas luces parece tener lugar en el caso presente, primero, por la menor señal de la matriz combinada respecto a la contenida sólo en la matriz molecular (tal como manifiesta el estadístico  $g1$ ) y, segundo, por la sensible alteración e incongruencia de las topologías resultantes del análisis conjunto en comparación con las obtenidas en exclusiva a partir de los caracteres moleculares. En todo caso, la misma operación tampoco serviría adecuadamente al propósito de identificar homoplasia de raíz no evolutiva, pues la combinación de caracteres que pertenecen a distintos niveles de organización puede poner en juego nuevos tipos de homoplasia que enmascaren la atribuible a un error de observación (DOYLE, 1996). En definitiva, a partir de los resultados y de las apreciaciones anteriores nada concluyente se puede decir acerca del origen real o no, en sentido evolutivo, de la conflictividad interna asociada a cada conjunto de caracteres.

Entre la serie de fenómenos biológicos capaces de provocar patrones filogenéticos discordantes (varios de los cuales ya se han discutido: diversificación rápida —internodos cortos—, sesgo de la composición en bases, heterogeneidad de la tasa de sustitución en la secuencia, heterogeneidad de la tasa evolutiva entre los táxones y procesos homoplásicos de convergencia, paralelismo y reversión), quedan por considerar todavía algunos de notable potencial distorsionador: evolución concertada incom-



pleta, hibridación (incluida la introgresión) y *lineage sorting*. El fenómeno de evolución concertada (ARNHEIM & *al.*, 1980; DOVER & COEN, 1981; DOVER, 1982; ARNHEIM, 1983) es responsable de la homogeneización de las copias que componen las familias de secuencias repetidas (*multigene families*), como la que forman los genes ribosómicos. En estos genes los mecanismos con los que opera dicho fenómeno han mostrado ser extraordinariamente eficaces (APPELS & HONEYCUTT, 1986), pero son conocidos casos en los que la homogeneización es parcial (p. ej. RITLAND & *al.*, 1993; SUH & *al.*, 1993; BUCKLER & HOLTSFORD, 1996), de manera que la coexistencia en un mismo taxon de copias con diferente secuencia plantea un problema de homología a nivel génico cuando las copias que se comparan resultan ser parálogas. En estos casos la reconstrucción filogenética es casi siempre equívoca (SANDERSON & DOYLE, 1992; BUCKLER & *al.*, 1997). La incidencia de una homogeneización incompleta en los táxones aquí estudiados se ha visto que es poco importante y, en cualquier caso, que no parece repercutir en las relaciones filogenéticas de las especies para las que se ha analizado. Así lo atestiguan la baja o nula variabilidad intraespecífica encontrada cuando se ha contado con más de un representante por especie y el que las secuencias correspondientes a cada una se reúnen en grupos monofiléticos. Existen un par de excepciones a esta última afirmación: *T. velutina*-*T. tartonraira* y *T. granatensis*-*T. pubescens*-*T. sanamunda*. La primera no genera relaciones conflictivas entre los dos conjuntos de datos, al contrario que la segunda, la cual encuentra, sin embargo, una mejor explicación a la luz de los dos restantes fenómenos biológicos indicados más arriba: hibridación introgresiva o *lineage sorting*. La implicación de estos fenómenos en la discordancia de genealogías resulta clara, ya que ambos provocan una asintonía entre las relaciones filogenéticas de las especies y de los caracteres o alelos afectados, lo que significa que la filogenia basada en éstos reflejará su propia trayectoria evolutiva y no necesariamente la de las especies que representan (DOYLE, 1992). Éste es el caso, por ejemplo, del clásico conflicto entre topologías apoyadas, respectivamente, por secuencias cloroplásticas introgresantes y nucleares divergentes (RIESEBERG & SOLTIS, 1991). Ambos fenómenos provocan el mismo síndrome en los árboles filogenéticos, por lo que normalmente no es posible su discriminación sin el concurso de datos o evidencias adicionales (p. ej. MASON-GAMER & *al.*, 1995; BUCKLER & HOLTSFORD, 1996). Entre los táxones estudiados, la ocurrencia de uno u otro fenómeno ha sido delatada por la inesperada agru-

pación de algunas secuencias de *T. pubescens* y *T. sanamunda* con las de *T. granatensis* (pág. 134). En este caso la utilización de varias secuencias por especie ha permitido identificar una fuente clara de conflicto y deshacerse de ella con la eliminación de las secuencias problemáticas, pero no es descartable que existan casos similares que permanezcan sin detectar. Para descargo de esta posibilidad, no obstante, hay que señalar que existe un solo suceso documentado de hibridación en *Thymelaea* (MÉDAIL & ABOUCAYA, 1993; aunque véanse también CRESPO, 1989 y PEDROL, 1997), que el número cromosómico base es bajo ( $n=9$ ) y que todas las especies para las que se conoce su dotación cromosómica, excepto una (*T. hirsuta*), son diploides.

La discusión precedente sobre un amplio repertorio de causas posibles de conflicto apunta al concurso de varios factores de diversa índole como responsables de las discrepancias observadas, por más que no todos tengan igual peso. Un papel protagonista en la presentación de relaciones conflictivas es confiadamente asignable a la rápida divergencia en el género *Thymelaea*, no sólo por su declarada intervención (pág. 140), sino también porque afecta a numerosos clados. Asimismo, parece ajustado que el notable nivel de homoplasia en los caracteres morfológicos con relación a su reducido número sean causa principal de relaciones filogenéticas improbables (puestas de manifiesto por débiles apoyos *bootstrap*) y, por tanto, fácilmente conflictivas con las relaciones apoyadas por los datos moleculares. Aunque la homoplasia puede devaluar la alta significación arrojada por el test de homogeneidad y la reducción de la señal que se produce al combinar los dos conjuntos de datos, estos resultados aportan cierto fundamento a la hipótesis de que ambos tipos de caracteres reflejan trayectorias evolutivas efectivamente discordantes para, al menos, parte de la filogenia; semejante afirmación es coherente con el rechazo manifestado por los caracteres morfológicos a los grupos más robustos obtenidos con los caracteres moleculares y con el rechazo por parte de los caracteres moleculares del grupo identificado con la sección *Chlamydanthus*, apoyado a su vez por los caracteres morfológicos. La responsabilidad que en el conflicto hayan tenido una evolución concertada incompleta, la hibridación y el *lineage sorting* es difícil de valorar, pero se presume que, aun habiendo sido comprobada su ocurrencia (pág. 134), han debido tener un efecto más localizado y, por tanto, una responsabilidad comparativamente menor.



## 5.2.

### **Anomalías filogenéticas que afectan a *Thymelaea granatensis*, *T. pubescens* y *T. sanamunda***

La obtención de secuencias idénticas correspondientes a *Thymelaea sanamunda* (población B) y a *T. granatensis* (población B) hizo pensar, en su momento, si podía haber ocurrido alguna confusión en el etiquetado de los extractos de ADN o en los resultados de la secuenciación o, incluso, contaminación en los procesos de extracción o amplificación. Tras las comprobaciones y pruebas convenientes, entre las que estuvo una nueva extracción y secuenciación para los mismos individuos, se descartaron tales suposiciones y se decidió ampliar el muestreo de estos táxones, sumando un representante de una nueva población por cada uno de ellos. Entre tanto, se presentó el mismo suceso con *T. pubescens* (subsp. *elliptica* A), cuya secuencia, como la mencionada de *T. sanamunda* B, mostró ser igual a la de *T. granatensis* B en todas sus posiciones. La ampliación del muestreo se extendió entonces a *T. pubescens*, para la que se escogieron tres nuevos representantes de otras tantas poblaciones. En la tabla 5.1 se muestra el alineamiento de las posiciones variables entre las secuencias de las tres especies.

En consonancia con las anomalías apuntadas, los análisis filogenéticos mostraron unas relaciones al principio inesperadas entre varias de las secuencias de los tres táxones. Existen algunas indicaciones que permiten descartar que este resultado sea un mero artefacto, por oposición a un reflejo cierto de la historia evolutiva seguida por las secuencias implicadas. Así, parece inverosímil que varios errores en el procedimiento de obtención de las secuencias hayan pasado desapercibidos y puedan explicar a la vez semejantes resultados, teniendo en cuenta que se secuenciaron, en todos los casos, las dos hebras de la molécula de ADN y que, en algunos, se repitió este proceso. No cabe tampoco pensar que las secuencias anómalas de *T. pubescens* y *T. sanamunda* correspondan a individuos pertenecientes a *T. granatensis*, pues la caracterización morfológica de dichos individuos respecto a esta última especie no presenta problemas. Por otro lado, forzar la monofilia de las secuencias correspondientes a una misma especie lleva a un aumento de 9 pasos con respecto a la topología de máxima parsimonia obtenida sin la restricción anterior, además de producirse un incremento de homoplasia (CI: 0,477;



				1	1	1	1	1	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6
	2	7	7	3	5	6	7	7	0	0	4	8	4	5	6	6	8	9	0
	6	0	6	2	1	2	3	4	0	8	4	8	3	6	0	3	9	6	5
<i>T. granatensis</i> A	C	C	C	C	C	C	-	-	C	G	C	G	T	A	G	A	T	C	T
<i>T. granatensis</i> B	C	T	C	C	C	C	-	-	C	G	S	G	C	A	G	A	T	C	T
<i>T. sanamunda</i> A	T	<b>T</b>	T	T	T	T	-	-	T	T	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	T	<b>G</b>	G	T	T	C
<i>T. sanamunda</i> B	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	-	-	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	T	<b>G</b>	<b>A</b>	T	<b>C</b>	<b>T</b>
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	T	T	T	A	C	<b>C</b>	<b>G</b>	T	<b>G</b>	<b>C</b>	T	A	G	G	<b>C</b>	C
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>thesioides</i>	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	T	T	T	A	C	<b>C</b>	<b>G</b>	T	<b>G</b>	<b>C</b>	T	A	R	T	<b>C</b>	C
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> A	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	-	-	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	T	<b>G</b>	<b>A</b>	T	<b>C</b>	<b>T</b>
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> B	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	-	-	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	T	T	<b>T</b>

Tab. 5.1. Posiciones variables entre las secuencias de *T. granatensis*, *T. sanamunda* y *T. pubescens*. En negrita se indican las posiciones de *T. sanamunda* y *T. pubescens* que se mantienen constantes respecto a cualesquiera de las secuencias de *T. granatensis*. Los polimorfismos están representados por los símbolos de la IUPAC (R: A,G; S: C,G).

RI: 0,742 frente a CI: 0,487; RI: 0,751) y del número de árboles igualmente posibles bajo este criterio (1273 frente a 168); todo ello, unido a que el grupo de *T. granatensis* (que incluye secuencias de los tres táxones) está apoyado por, al menos, cinco sinapomorfias, hacen improbable que las relaciones desveladas por los análisis sean filogenéticamente falsas.

Visto lo anterior, es necesario buscar seguidamente una explicación entre los fenómenos evolutivos capaces de justificar las relaciones observadas. Puede ser que las sinapomorfias que definen el grupo de *T. granatensis* sean sólo aparentes y se deban a una evolución convergente en esas posiciones o a una retención del estado presente en el ancestro común a todas las secuencias (en cuyo caso se trataría de simple-siomorfias). Estas explicaciones resultan poco convincentes, pues la posibilidad de que cualquiera de dichos fenómenos afecte simultáneamente a cinco posiciones de los ITS —considerando a la vez que el devenir evolutivo de los espaciadores es seguramente más neutral que selectivo y que no se ha detectado covariación para las posiciones incluidas en el ITS2— a poblaciones geográficamente localizadas (fig. 5.1) y a tres especies distintas, debe ser ciertamente remota.

Otra alternativa es aludir a una segregación diferencial de polimorfismos alélicos presentes en el ancestro común (*lineage sorting*), de manera que algunas poblaciones de *T. sanamunda* y *T. pubescens* hayan retenido el mismo alelo que *T. granatensis* en su trayectoria evolutiva.

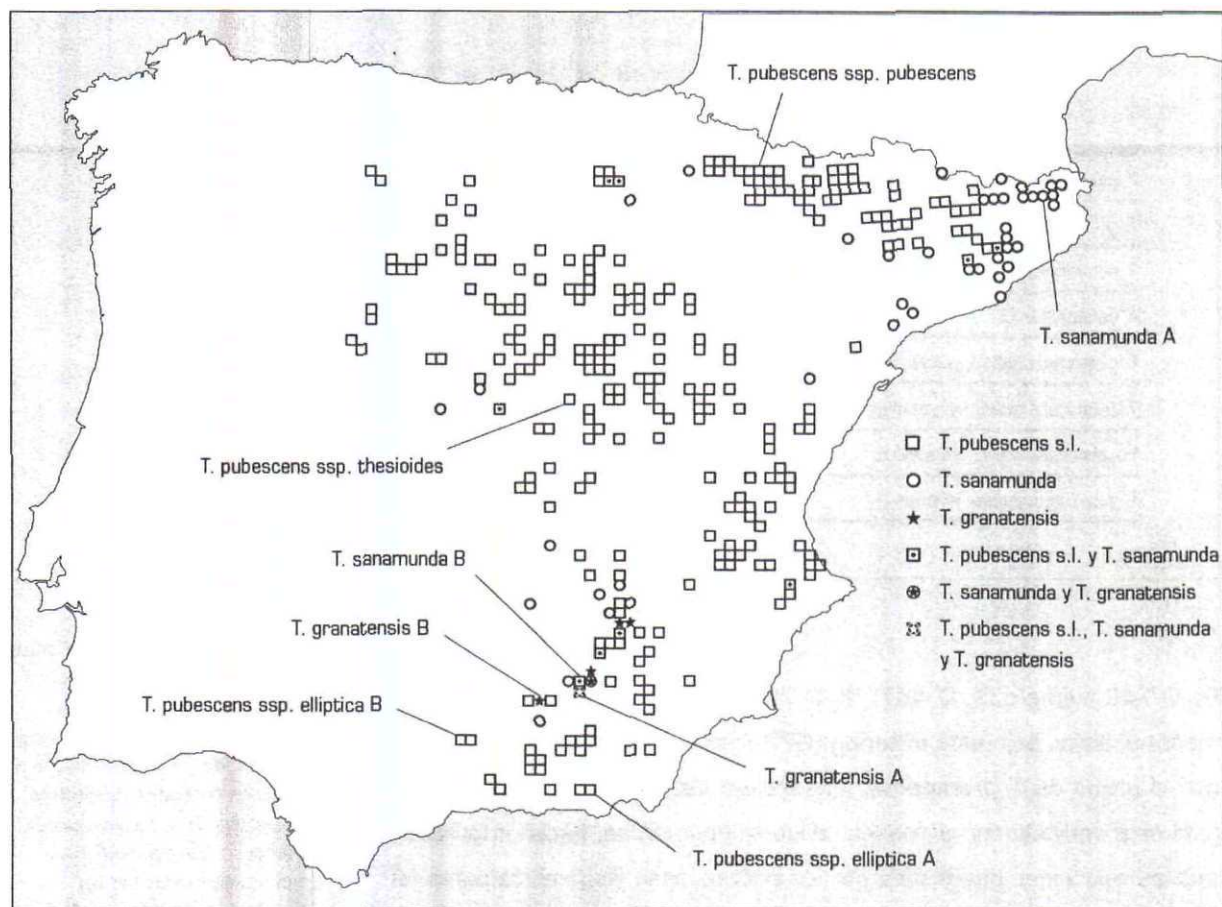


Fig. 5.1. Distribución de *T. pubescens*, *T. sanamunda* y *T. granatensis* según la malla de cuadrículas UTM de 10x10 km. Se indican también las cuadrículas de procedencia de las secuencias estudiadas de estas tres especies.

Esta explicación es considerada también improbable, debido a que así lo es el que los alelos hayan permanecido desde la cladogénesis sin acumular diferencias, sobre todo si se atiende a la divergencia que sí han experimentado *T. pubescens* subsp. *pubescens*, *T. pubescens* subsp. *thesioides* y *T. sanamunda* A. Además, ello requiere que los polimorfismos se hayan mantenido durante largo tiempo en el clado de *T. pubescens*-*T. sanamunda*, lo que nuevamente se estima poco probable a tenor de la aparente efectividad de los mecanismos de evolución concertada en el género. Un último argumento en contra de esta propuesta es la concentración geográfica que muestran las variantes alélicas que forman el grupo de *T. granatensis*, cuando lo esperado en un caso de lineage sorting sería una distribución más bien aleatoria.

Finalmente, una alternativa prometedora es atribuir las relaciones observadas al concurso de sucesos de hibridación introgresiva (ANDERSON, 1949: incorporación permanente de material genético de una especie en otra como consecuencia de repetidos retrocruzamientos de



los híbridos con los parentales] y homogeneización de las secuencias por evolución concertada en favor de la secuencia introgresante, en este caso de *T. granatensis*. Esta hipótesis se encuentra apoyada por la estructura geográfica de las secuencias implicadas (fig. 5.1) y la simpatría de las tres especies en el entorno de la sierra de Cazorla, así como por la ya mencionada efectividad aparente de los mecanismos que sirven a la evolución concertada en *Thymelaea*. Si bien no se tiene constancia previa de flujo génico entre *T. granatensis* y cualquiera de las dos restantes especies, sí se sospecha que existe entre *T. sanamunda* y *T. pubescens*, precisamente en la sierra de Cazorla, donde es frecuente encontrar individuos difíciles de encajar en una u otra especie por su morfología [cf. PEDROL, 1997]. Con tales evidencias son factibles algunos razonamientos sobre el modo en que puede haberse llegado a la situación actual: si tras suceder la hibridación de *T. granatensis* con *T. sanamunda* y/o *T. pubescens* se producen sucesivos retrocruzamientos con estas últimas especies, es admisible que resulten individuos virtualmente indistinguibles de ellas, pero que conserven ciertos alelos de *T. granatensis* que pueden ser fijados rápidamente mediante evolución concertada. La celeridad con que este fenómeno produce la homogeneización de las secuencias tras un suceso de hibridación se ha visto que puede ser sorprendentemente elevada (p. ej. WENDEL & al., 1995b; FUERTES & al., 1999).

Las direcciones que haya tomado el flujo génico son imposibles de asegurar sin un muestreo más amplio de poblaciones y marcadores en un caso en el que parecen entrar en juego más de dos especies. No obstante, se pueden arriesgar algunas sugerencias al respecto con los datos que se tienen entre manos. La difusión de la introgresión entre tres especies puede ser explicada con un mínimo de dos eventos de hibridación interespecífica; si, apelando al principio de Occam (las explicaciones simples son preferibles a las más complicadas), damos preferencia a la ocurrencia de un mínimo número de eventos evolutivos frente a un número mayor, las alternativas posibles de hibridación se reducen a tres (fig. 5.2): 1. La introgresión de *T. granatensis* se produce en *T. pubescens* y se propaga a *T. sanamunda*. 2. La introgresión de *T. granatensis* se produce en *T. sanamunda* y se propaga a *T. pubescens*. 3. La introgresión de *T. granatensis* se produce independientemente en *T. pubescens* y en *T. sanamunda*. Sumando a este planteamiento las sospechas fundadas en la morfología de que la hibridación es un suceso relativamente frecuente entre *T.*

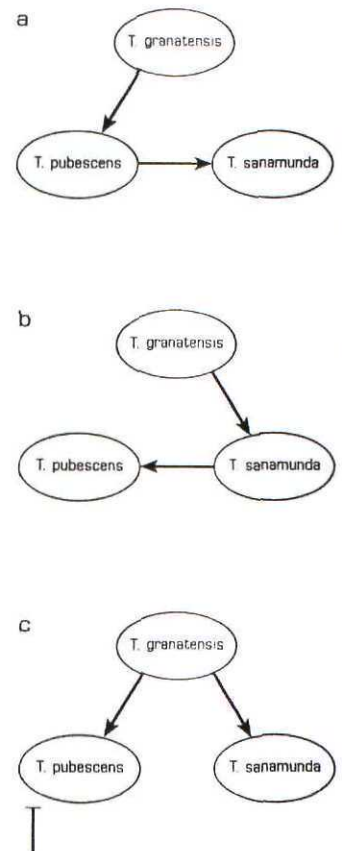


Fig. 5.2. Hipótesis que explican con un mínimo número de eventos evolutivos la difusión de las secuencias introgresantes de *T. granatensis* a *T. pubescens* y *T. sanamunda*: a. La introgresión de *T. granatensis* se produce en *T. pubescens* y se propaga a *T. sanamunda*. b. La introgresión se produce en *T. sanamunda* y se propaga a *T. pubescens*. c. La introgresión se produce independientemente en *T. pubescens* y *T. sanamunda*.



*pubescens* y *T. sanamunda*, sería posible considerar más probables cualquiera de las dos primeras hipótesis. Seguramente, las barreras interpuestas a la hibridación entre estas especies y *T. granatensis* fueran en el pasado más permeables de lo que parecen en la actualidad, a juzgar por la aparente ausencia de híbridos espontáneos en el presente; sin embargo, la mayor proximidad filogenética de *T. sanamunda* y *T. pubescens* hace pensar que la producción de híbridos fértiles debe haber sido siempre superior entre estas últimas especies que entre cualquiera de ellas y *T. granatensis*.

La distribución geográfica de las variantes alélicas (fig. 5.1) muestra que la introgresión se extiende fuera de la supuesta zona de hibridación (sierra de Cazorla-sierra de Mágina), afectando a otras poblaciones andaluzas (sierras de Gádor, en Almería, y de la Horconera, en Córdoba), pero no parece haber alcanzado poblaciones más alejadas, como las muestreadas de Gerona (*T. sanamunda*), Huesca y Madrid (*T. pubescens*).

Si se confirma que, como parece, se mantienen las líneas afectadas por la introgresión en un ambiente ecogeográfico particular y en poblaciones asignables a especies diferentes, sería posible especular para los genomas introgresados un valor selectivo superior al de las estirpes puras, atribuible quizás a la transferencia de adaptaciones genéticas favorables desde *T. granatensis*. Ésta es, sin embargo, una hipótesis especialmente difícil de demostrar y, en cualquier caso, requiere conocer antes si la introgresión ha afectado a otras regiones aparte de la de los ITS.

En definitiva, la conjunción de diversas evidencias valorada a la luz de distintos procesos evolutivos lleva a preferir la intervención combinada de hibridación introgresiva y rápida evolución concertada como mejor explicación de las relaciones filogenéticas estimadas entre las secuencias de *T. granatensis*, *T. sanamunda* y *T. pubescens*. Aun sosteniendo que esta hipótesis parece la más favorable, para resultar firme necesita ser reforzada incorporando secuencias de nuevas poblaciones y marcadores, resultados experimentales sobre hibridación, datos cromosómicos y un análisis más profundo de la variabilidad morfológica en *T. pubescens* y *T. sanamunda*. La extensión del muestreo a nuevas poblaciones que abarquen la totalidad del área de distribución de los tres táxones es importante no sólo como ayuda para corroborar la hipótesis presentada, sino también para conocer el alcance geográfico de la introgresión y mejorar

así la comprensión de la historia evolutiva de los táxones implicados. Aunque la presencia actual de *T. sanamunda* fuera de la región donde exhibe los caracteres morfológicos más estables y exclusivos (Cataluña-sur de Francia) ha sido tradicionalmente reconocida (TAN, 1980a; PEDROL, 1997), esta percepción podría verse matizada, si no comprometida, determinando con cierta precisión la identidad genética de las poblaciones que aparecen disyuntas respecto a la región señalada. De especial importancia es obtener evidencias independientes a partir de otros marcadores moleculares, particularmente del ADN cloroplástico que, por su carácter no recombinante, permite a la vez un juicio más favorable a la introgresión frente a la convergencia y la simplesiomorfia (RIESEBERG & BRUNSFELD, 1992) y, por su herencia generalmente uniparental, sirve además para precisar la dirección del flujo génico entre poblaciones. El análisis con nuevos marcadores puede también ayudar a conocer el grado de introgresión sufrido por el genoma de las especies afectadas y una posible bidireccionalidad del fenómeno. Del análisis de híbridos obtenidos en condiciones controladas pueden resultar, entre otras cosas, valiosos apoyos o enmiendas a los modelos de introgresión planteados (RIESEBERG & *al.*, 1995; CHIANG & *al.*, 2001), mejores conocimientos sobre las respuestas fenotípicas a los sucesos de hibridación e introgresión y más precisa información sobre las interacciones entre el genotipo y el ambiente en los híbridos (ARNOLD, 1992).

### 5.3. Resolución de la filogenia y cladogénesis en *Thymelaea*

Las reconstrucciones filogenéticas llevadas a cabo sobre los caracteres moleculares han mostrado siempre una débil resolución de las relaciones entre los clados basales de *Thymelaea*, la cual contrasta con la presencia de grupos considerablemente robustos para las divergencias más recientes. Así lo ponen de manifiesto la extensa politomía basal del árbol de consenso estricto obtenido tras el análisis con máxima parsimonia (fig. 4.4) y los bajísimos apoyos estadísticos asociados a dichos clados en las topologías resultantes de los análisis, tanto con dicho criterio como con los métodos basados en distancia genética.

La ausencia de divergencias consistentes y su expresión en forma de politomía puede constituir un artefacto analítico, provocado por la violación de diversas asunciones o por la utilización de un número insuficiente de caracteres, o puede reflejar un proceso evolutivo real de cladogénesis múltiple (MADDISON, 1989; HOELZER & MELNICK, 1994; WALSH & *al.*, 1999; JACKMAN & *al.*, 1999; FISHBEIN & *al.*, 2001). Desvelar la naturaleza dicotómica o politómica de la diversificación de *Thymelaea* en su historia evolutiva más temprana requiere, por tanto, hacer un repaso de los factores que pueden haber dado lugar a los resultados observados.

El que con distintos métodos de análisis filogenético se hayan obtenido resultados similares, a la par que comprobado que las características de las secuencias analizadas no imponen limitaciones importantes a la efectividad normal de estos métodos y que se ajustan de manera razonable a los modelos asumidos, invalida las sospechas de un uso inadecuado de los métodos y modelos aplicados.

Mucho más clara resulta la sospecha de contar con una cantidad insuficiente de caracteres informativos capaces de apoyar una diversificación dicotómica en los niveles más profundos de la filogenia de *Thymelaea*. Tal sospecha encuentra un fundamento sólido en la existencia de internodos extremadamente cortos en dichos niveles: la longitud estimada (asumiendo un modelo de sustitución REV+I') oscila entre 0 y 0,008 sustituciones/sitio (fig. 4.10). Igualmente sólido resulta el respaldo ofrecido por la ausencia de señal filogenética significativa detectada para el subconjunto seleccionado de secuencias que representan los clados integrantes de la supuesta politomía basal (pág. 109).



La cantidad de caracteres informativos depende esencialmente de la tasa evolutiva que afecta a las secuencias consideradas, de la dimensión temporal de la secuencia cladogenética y del número total de caracteres analizados. La larga lista de trabajos publicados en los que se han utilizado los ITS ha permitido comprobar que resultan generalmente efectivos para la reconstrucción filogenética de relaciones interespecíficas e intergenéricas (BALDWIN & *al.*, 1995; HERSHKOVITZ & *al.*, 1999), lo que es corroborado en el presente caso, al resolverse de manera consistente dicho rango de relaciones en varios de los clados. Este hecho no es extraño si se tiene en cuenta el considerable número de caracteres informativos que aportan las secuencias estudiadas, que supone cuatro veces el de táxones. Ahora bien, podría ser que la señal filogenética se hubiera visto confundida por el exceso de homoplasia resultante de tratar con unas secuencias quizá saturadas de cambios, al menos al nivel de divergencia de los clados más próximos a la raíz del grupo interno. Se ha visto, sin embargo, que la saturación no se ha alcanzado en ningún caso (pág. 101), ni siquiera para las secuencias más divergentes, y que la cantidad de homoplasia es razonablemente baja. Por el contrario, se podría argumentar que estas secuencias hubieran experimentado un periodo de lenta evolución mientras tuvo lugar la diferenciación de los clados en cuestión. No obstante, de ser válido este argumento, tendrían que haberse visto afectados temporalmente por una tasa de sustitución anormalmente baja, a juzgar por las características evolutivas de estos espaciadores en otros grupos de angiospermas, lo que, además, entra en contradicción con la aceptación del reloj molecular para el conjunto de la filogenia estimada (excluidos los clados *T. pubescens*-*T. sanamunda*, *T. granatensis* y *T. antiatlantica*-*T. virgata*; pág. 97). La tasa evolutiva de las secuencias analizadas parece, por tanto, apropiada para el nivel de resolución pretendido, de modo que, por lo que respecta a este factor, es razonable esperar un número suficiente de caracteres informativos para resolver unas relaciones de tipo dicotómico entre los clados discutidos. De hecho, se ha podido observar que existe una cantidad no despreciable de caracteres informativos en las secuencias representantes de 12 de los 17 clados supuestamente implicados en la politomía basal de *Thymelaea* (pág. 109), pero no presentan una estructura filogenética significativamente distinta de la que aportarían unos datos aleatorios ( $g1 = -0,137$ ;  $P < 0,05$ ). Esta observación es coherente con el resultado del test SH, que no indica diferencias significativas entre una hipótesis filogenéti-

ca que integra la mencionada politomía y cualquiera de las topologías obtenidas con los análisis aplicados y que aportan soluciones en forma de ramificación dicotómica (pág. 109; apéndice 7.6). Ambos resultados son favorables a la hipótesis de un proceso radiativo de especiación (cf. JACKMAN & *al.*, 1999; FISHBEIN & *al.*, 2001). Por otro lado, la reconstrucción filogenética que resulta de forzar el reloj molecular para la evolución de las secuencias pone en evidencia la potente compresión temporal de los eventos cladogenéticos ocurridos durante la diversificación inicial de *Thymelaea* (fig. 4.21), sumando así un nuevo soporte a la posibilidad de que la inestabilidad de los clados sea consecuencia de su aparición rápida o simultánea. Quedaría por ver, en todo caso, si el análisis de un número total de caracteres mayor puede llegar finalmente a resolver la politomía en favor de una ramificación dicotómica, discriminando, si esto ocurriera, entre lo que parecen las dos únicas opciones capaces de explicar, por lo menos en parte, la falta de resolución observada: cladogénesis rápida o cladogénesis simultánea. Alternativamente, sería en teoría posible resolver este dilema contando con una secuencia cuya tasa evolutiva variara en función de la tasa cladogenética, habida cuenta de la existencia de procesos evolutivos capaces de favorecer esta asociación, como una selección estabilizadora actuando tras un periodo de profusa especiación (ROHLF & *al.*, 1990; DONOGHUE & SANDERSON, 1992; BATEMAN, 1999). De este modo, una tasa de sustitución alta durante el tiempo de cladogénesis rápida que se viera después ralentizada a la par que lo hiciera la aparición de nuevos clados, aportaría a la filogenia un balance de cambios adecuado para ser resuelta a todos los niveles (DONOGHUE & SANDERSON, 1992). No se tiene constancia de evidencias empíricas sobre este comportamiento en el caso de los nucleótidos, pero sí se ha lanzado la idea de que afecte con mayor probabilidad a mutaciones estructurales del ADN y, sobre todo, a caracteres morfológicos. Estos últimos se consideran más proclives a ser seleccionados en cada evento de especiación y mantenidos subsecuentemente en cada línea evolutiva (OLMSTEAD, 1989; DONOGHUE & *al.*, 1989; DONOGHUE & SANDERSON, 1992; BATEMAN, 1999; FISHBEIN & *al.*, 2001; no obstante véase CHASE & *al.*, 2000). Los resultados del análisis filogenético llevado a cabo con los caracteres morfológicos permiten suscribir esta hipótesis, pues en los filogramas obtenidos no se observa la compresión de las ramas que muestran los filogramas moleculares, sino que éstas son proporcionalmente más largas (fig. 4.1). Desgraciadamente, los caracteres morfoló-

gicos analizados, ya sea de manera independiente o en conjunción con los moleculares, no ayudan a resolver de manera robusta las relaciones entre los clados basales de *Thymelaea*, quizá debido a su bajo número (cf. BREMER & al., 1999). A pesar de ello, tal patrón de "ramas moleculares" cortas y "ramas morfológicas" largas para el mismo conjunto de táxones podría esgrimirse como una evidencia más de apoyo a la hipótesis de radiación si se acepta el supuesto apuntado de una evolución de tipo puntuado para los caracteres morfológicos y una evolución más gradual para los caracteres moleculares (cf. BATEMAN, 1999).

Todo lo anterior lleva a considerar, si no definitivamente concluyente, sí altamente probable, que *Thymelaea* haya experimentado un proceso de diversificación rápida o simultánea tras su constitución como entidad independiente dentro de la familia. Ya entonces habrían quedado dispuestas la mayoría de las líneas evolutivas que integran el género, las cuales, salvo pocas excepciones, parecen haberse mantenido relativamente estables hasta el momento actual. Entre las excepciones destacan el clado identificado como sección *Ligia*, que reúne todas las especies anuales, el que agrupa a *T. broteriana*, *T. coridifolia*, *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum* y *T. procumbens*, el formado por *T. calycina*, *T. subrepens* y *T. ruizii*, y el correspondiente a la subsección *Hirsutae* K. Tan, todos ellos diversificados en épocas más recientes (fig. 4.21).



## 5.4.

### El grupo hermano de *Thymelaea* y las relaciones filogenéticas entre otros géneros próximos

Los géneros representados en el presente trabajo, aunque considerados morfológicamente afines (con excepción de *Gnidia*), mantienen una relaciones filogenéticas bastante oscuras. Lo aportado a este respecto se ha situado, casi siempre, en el marco taxonómico de la delimitación de géneros, asunto, por otra parte, frecuentemente complejo dentro de las tímeleáceas (pág. 9).

Los análisis filogenéticos efectuados a partir de los caracteres morfológicos diferencian dos clados dentro del grupo externo, uno integrado por *Diarthron vesiculosum* y otro formado por el resto de los géneros incluidos en este grupo (fig. 4.1). No obstante, el apoyo de estas relaciones, tal como es evaluado con el procedimiento de *bootstrap*, es notablemente bajo (< 46 % con igual peso para todos los caracteres y < 65 % tras el pesaje sucesivo). Cuando dichos caracteres se analizan en conjunción con los moleculares, las relaciones permanecen invariables respecto a las que se obtienen con este último tipo de caracteres por separado. En este caso resultan también dos clados principales, pero ahora están fuertemente apoyados (99,8 %) y son de diferente composición a los anteriores: uno definido exclusivamente por *Daphne* y otro por el resto de los géneros situados en el grupo externo. Respecto a las relaciones entre ambos clados y el que corresponde a *Thymelaea*, todas las hipótesis filogenéticas obtenidas utilizando como grupo externo la secuencia de *Gnidia carinata* coinciden en destacar a *Daphne* como grupo hermano de *Thymelaea* (figs. 4.14-4.18). Este resultado contradice lo propuesto por DOMKE (1934), quien incluyó ambos géneros en tribus separadas (*Daphneae* y *Gnidieae*, respectivamente; véase pág. 11). Por el contrario, refuerza lo apuntado por TAN (1980a) al hacer la delimitación del género *Thymelaea* respecto a *Daphne* y otros géneros cercanos. Asimismo, no contradice la hipótesis presentada por VAN DER BANK & *al.* (2002) basada en el análisis de las secuencias del gen *rbcl* y de la región no codificante *trnL-F*, la cual aporta unas relaciones irresolutas entre *Daphne*, *Thymelaea* y *Diarthron* (fig. 1.5). En este último caso, el presente resultado serviría además como solución complementaria a tal politomía si no fuera por la posición de *Diarthron vesiculosum*. En efecto,

aunque ambos resultados son coincidentes en cuanto a la disposición de *Daphne-Thymelaea* y *Stellera-Wikstroemia* en respectivos clados hermanos, las secuencias de los ITS apoyan la inclusión de *Diarthron vesiculosum* en este último clado, mientras que la región trnL-F (los autores mencionados no contaron con el rbcL para *D. vesiculosum*) favorece la relación con el primero. Es muy probable que esta discrepancia se deba a la ausencia de otros representantes de *Diarthron* (*sensu* TAN, 1982) en los análisis efectuados por van der Bank & al., no así en el presente trabajo. A este respecto hay que recordar que con anterioridad a la redefinición que hizo Tan de *Diarthron* varias de sus especies eran clasificadas en géneros independientes (*Stelleropsis*, *Dendrostellera*) y que, además, a la luz de lo resuelto por los ITS, *Diarthron* (tal como fue definido por Tan) es polifilético. Cabría, por otra parte, dudar de la competencia de *Gnidia* como grupo externo, al ser un taxon quizá demasiado distante de los que componen el grupo interno; sin embargo, el hecho de que las relaciones filogenéticas en los clados revelados sin este taxon permanezcan inalteradas con su incorporación permite ser confiados en este aspecto. En el mismo sentido y aunque resulte obvio, conviene hacer notar también que el enraizamiento de los árboles obtenidos sin *Gnidia* al considerar sólo *Stellera* y *Wikstroemia* como grupo externo (en atención a los resultados de van der Bank & al.) resuelve las relaciones entre *Thymelaea* y *Daphne* como grupos hermanos.

En conclusión, los datos analizados señalan a *Daphne* como género más estrechamente emparentado con *Thymelaea*. Este clado, a su vez, se revela hermano del formado por *Diarthron*, *Stellera* y *Wikstroemia*, en el cual se diferencian dos nuevos grupos monofiléticos integrados, respectivamente, por *Diarthron vesiculosum*-*D. lessertii* (= *Dendrostellera lessertii*)-*Stellera chamaejasme* y *Wikstroemia canescens*-*W. albertii* (= *Restella albertii*)-*Diarthron antoninae* (= *Stelleropsis antoninae*). Es preciso hacer notar, no obstante, la conveniencia de reforzar estas conclusiones con un muestreo más amplio de representantes de cada uno de los géneros incluidos, especialmente de *Wikstroemia* y de *Daphne*, que reúnen un amplio y variado contingente de especies y presentan entre ellos, además, su particular conflicto de identidad (p. ej. DOMKE, 1932; DING HOU, 1960; YINGZHENG, 1999).

## 5.5. La mejor estimación posible de las relaciones filogenéticas en *Thymelaea*

Las evidencias que aportan los datos recopilados y los resultados de los análisis, lejos de poder ser aprovechadas de manera automática, requieren de una interpretación que conduzca, en lo posible, a una hipótesis razonable de la filogenia.

Los apoyos obtenidos a las sospechas de una incongruencia sustentada en trayectorias evolutivas discrepantes, aunque sea sólo parcialmente, desaconsejan considerar el resultado del análisis conjunto de los datos morfológicos y moleculares como la mejor estimación posible de la filogenia. Del propio análisis conjunto surgen, además, nuevos soportes a esta idea. La combinación de todos los caracteres no sólo da lugar a una topología incongruente con las obtenidas con cualquiera de los conjuntos de datos, sino que hace disminuir el apoyo de varios de los clados más robustos aparecidos en las topologías respaldadas por los datos moleculares. Este hecho es congruente con la caída de la señal filogenética que se produce en la matriz combinada respecto a la existente en las secuencias de ADN. Tales resultados llevan a la conclusión de que la débil concordancia y complementariedad de las señales filogenéticas contenidas en cada tipo de caracteres no consigue sobreponerse a las nuevas dosis de homoplasia puestas en juego con su combinación, de modo que ni es paliado el efecto del error de muestreo y del conflicto interno asociados a los caracteres morfológicos, ni superada la principal deficiencia (?) de los caracteres moleculares: la baja resolución que aportan a los niveles profundos del grupo interno.

Las secuencias de la región de los ITS se muestran poco efectivas para resolver las relaciones en los niveles más profundos del grupo interno, pero proporcionan apoyos elevados a las divergencias más recientes. No obstante, conviene recordar aquí que las relaciones reveladas por dichas secuencias, aun siendo algunas de ellas robustas, pueden no reflejar la historia evolutiva de los táxones a los que representan debido a la posible intervención de ciertos fenómenos evolutivos asociados a este tipo de secuencias (véase lo discutido a este respecto en el apartado 5.1). Teniendo esto en cuenta y dadas las discrepancias aparentes entre los resultados apoyados independientemente por los caracteres morfológicos y por los moleculares, cabe sospechar que las relaciones entre los



táxones estén mejor representadas en las reconstrucciones filogenéticas basadas en los caracteres morfológicos. Sin embargo, ya se vio al hablar del conflicto entre las hipótesis filogenéticas que, a pesar de no descartarse el concurso de tales fenómenos, su responsabilidad en dicho conflicto se presume baja en comparación con la que parecen tener otros factores, principalmente la existencia de internodos cortos en las hipótesis derivadas de los caracteres moleculares y un nivel de homoplasia en los caracteres morfológicos proporcionalmente elevado respecto al escaso número que representan. Precisamente, estas características de los caracteres morfológicos hacen que por sí solos se revelen incapaces de ofrecer unas relaciones filogenéticas robustas, más allá del importante apoyo que prestan a la monofilia de *Thymelaea*. En cualquier caso, la afirmación de que los ITS parecen reflejar la historia evolutiva de las especies y no sólo su propio devenir evolutivo resulta especialmente válida para aquellos grupos que ven reforzado su apoyo en los análisis de la matriz combinada de caracteres morfológicos y moleculares (particularmente significativo en el caso de *T. pubescens*-*T. sanamunda*), lo que da testimonio, además, de que la concordancia y complementariedad de las señales filogenéticas de ambos conjuntos de caracteres, a pesar de ser débil, es perceptible. Por otro lado, el que los ITS no resuelvan las relaciones entre los clados basales de *Thymelaea* en forma de divergencias no se puede considerar, por completo, una deficiencia de estos datos, si se tiene presente que la diversificación rápida o simultánea es un suceso evolutivo posible (cf. HOELZER & MELNICK, 1994) y que, efectivamente, parece haber ocurrido en este caso. Ello permite considerar que una politomía constituye la representación más adecuada de las relaciones filogenéticas entre los clados basales de *Thymelaea*. Los tests estadísticos dirigidos a evaluar tal hipótesis (cladogénesis rápida o simultánea) indican que ésta es aceptable para una politomía formada por doce clados (fig. 4.5), cuyas posiciones ni aparecen resueltas en las topologías de consenso ni gozan generalmente de suficiente apoyo *bootstrap* ( $\geq 70\%$ ) en ninguno de los análisis efectuados. Ahora bien, quedan fuera de dicha politomía algunos otros que poseen estas mismas características relativas a su posición en la filogenia (*T. sanamunda*, *T. hirsuta*, *T. procumbens*, *T. coridifolia*, *T. broteriana*, *T. argentata*, *T. granatensis*) y que, por ello, habrían de integrarse en aquella, reflejando de este modo la ambigüedad de su posición. Estos casos, sin embargo, pueden resolverse tentativamente (salvo *T. granatensis*) admitiendo como más favorables aquellas

relaciones filogenéticas que se obtienen indistintamente con diferentes métodos de análisis y con diferentes conjuntos o combinaciones de datos. Así, la asociación entre *T. pubescens* y *T. sanamunda* se ve favorecida al tener en cuenta que aparecen formando un único clado en todos los análisis basados en distancias, en el análisis con parsimonia tras el pesaje de caracteres y en los análisis conjuntos de los caracteres morfológicos y moleculares (aquí, además, con un apoyo excepcionalmente considerable: 78,8 %); los grupos *T. lythroides*-*T. lanuginosa*-*T. hirsuta* y *T. procumbens*-*T. coridifolia*-*T. broteriana*-*T. argentata* se ven igualmente favorecidos por ser así resueltos en todos los análisis efectuados, excepto en los basados en los caracteres morfológicos y, en el segundo caso, en el análisis conjunto de los dos tipos de caracteres. Finalmente, sobre la posición de *T. granatensis* y las relaciones entre *T. passerina*-*T. salsa*, *T. aucheri*-*T. cilicica*, *T. mesopotamica* y *T. gussonei* no es posible destacar una solución entre las varias posibles desveladas por los análisis.

En definitiva, la mejor hipótesis filogenética posible de *Thymelaea* debería tener en cuenta las anteriores consideraciones, surgidas de la propia interpretación de los datos y resultados de los análisis. Una hipótesis así calificada queda representada al colapsar en la figura 4.5 aquellos clados cuya secuencia de aparición se estima que fue muy rápida o simultánea (señalados en dicha figura con trazo discontinuo). De este modo se obtiene una topología que no sólo reúne los grupos más consistentes y mejor apoyados en todos los análisis basados en los caracteres moleculares y en el combinado de caracteres morfológicos y moleculares, sino que recoge también las observaciones mencionadas sobre los clados de posición más ambigua y más débilmente apoyada y resulta congruente (exceptuando las posiciones de *T. argentata* y *T. granatensis*) con las hipótesis apoyadas por la matriz conjunta de los dos tipos de caracteres.

## 5.6.

### Escala temporal de la filogenia y biogeografía histórica de *Thymelaea*

La inexistencia de fósiles indiscutiblemente asignables a *Thymelaea* impide hacer una calibración de la filogenia más o menos precisa basada en ellos, de ahí que este problema se haya enfrentado, de partida, utilizando las tasas de sustitución estimadas para otros grupos de angiospermas. No obstante, juzgar cuál de las calibraciones basadas en dichas tasas está más próxima a la verdad requiere la asistencia de otros datos.

Los fósiles más antiguos conocidos de *Thymelaeaceae* son palinomorfos correspondientes al Eoceno, encontrados en Europa (KRUTZSCH, 1966; MULLER, 1981) y en la India (VENKATACHALA & *al.*, 1988). Los europeos son clasificados en el tipo *Daphne*, donde se incluyen, además de este género, *Octolepis* Oliv. y *Wikstroemia* (MULLER, 1981); sin embargo, recientemente se ha puesto en duda su asignación a la propia familia *Thymelaeaceae* (HERBER, 2002). Los primeros fósiles que, con mayor seguridad, se pueden situar en la línea evolutiva que conduce a *Daphne-Thymelaea* se remontan al Mioceno. Palinomorfos probablemente relacionados con alguno de estos dos géneros se han encontrado en sedimentos de edad Vallesiense (Tortonense, Mioceno Superior) del noreste de la península Ibérica (BARRÓN, 1995) y macrorrestos fósiles asignados a *Daphne* son citados en MEDUS & PONS (1980), PALAMAREV (1989) y GREGOR (1990) del Mioceno y del Plioceno europeos.

Bajo la tasa de sustitución más lenta estimada para los ITS, la diferenciación del clado correspondiente a *Thymelaea* se remonta al tránsito Triásico-Jurásico y su radiación al Cretácico Inferior (tab. 4.12). Estas fechas son muy anteriores a la de los primeros fósiles conocidos de la familia, además de marcadamente irreales, teniendo en cuenta que las primeras angiospermas aparecen en el registro fósil a comienzos del Cretácico, que su radiación más temprana se produce en el Cretácico medio (HUGHES, 1994; CRANE & *al.*, 1995) y que la familia *Thymelaeaceae* mantiene una posición subordinada en la filogenia de este grupo taxonómico (APG, 1998). Semejante resultado no es extraño dada la lejanía de parentesco entre las winteráceas y las timeleáceas.

Aplicando la tasa más rápida de sustitución se estima que la línea evolutiva que conduce a *Thymelaea* surge en el Plioceno y que la radiación del género ocurre entre el Plioceno y el Pleistoceno. En este caso,



considerando que *Daphne* existía como tal desde, al menos, el Mioceno Superior, resulta muy improbable que la divergencia *Daphne-Thymelaea* ocurriera, según esta datación, en el Plioceno. Además, parece difícil asumir, aunque no sea descartable, que *Thymelaea* haya sufrido una diversificación de tal calibre en tan corto lapso de tiempo. Por otra parte, si se admite que el tiempo de generación puede tener un efecto en la tasa de sustitución (WU & LI, 1985; GAUT & *al.*, 1992; LI, 1993), es aceptable sospechar que la tasa de *Eupatorieae*, cuyas especies son herbáceas perennes, sea superior a la de *Thymelaea*, en el que predominan los arbustos y matas leñosos. Más aún, el notable alejamiento filogenético de ambos géneros favorece las sospechas de que ésta puede ser una tasa poco ajustada a la cadencia evolutiva seguida por *Thymelaea*.

La temporalización que se obtiene utilizando la tasa evolutiva estimada para *Gossypium* sitúa la radiación de *Thymelaea* en el Mioceno Superior (Tortonense) y el origen de este clado en el Mioceno Inferior (Burdigaliense). Las dataciones resultantes de la aplicación de dicha tasa se mantienen coherentes con las referencias fósiles mencionadas anteriormente; además, a diferencia de lo que ocurría con *Winteraceae* y *Eupatorieae*, *Gossypium* presenta una proximidad filogenética con *Thymelaea* comparativamente alta (las últimas propuestas de clasificación sitúan a las familias *Malvaceae* y *Thymelaeaceae* en el mismo orden: ALVERSON & *al.*, 1994; CONTI & *al.*, 1996; APG, 1998) y cuenta con un espectro de tipos biológicos relativamente similar al de *Thymelaea*. Todas estas características permiten asignar un voto de confianza a las dataciones obtenidas con este género y tomar éstas como punto de partida para explorar el rango de opciones posibles que aún se presentan entre los extremos descartados.

El acentuado xeromorfismo de todos los táxones incluidos en *Thymelaea* permite asumir (como interpretación más parsimoniosa, si se quiere) que el ancestro común presentara asimismo un carácter xeromórfico. Si, teniendo esto presente, se acepta que el origen y, especialmente, la radiación del género están relacionados con la existencia de condiciones ambientales más o menos xéricas, resulta razonable admitir que dichos sucesos evolutivos hayan tenido lugar a partir del Mioceno Medio, cuando el clima en Eurasia adquiere un carácter árido (deficitario en precipitación), menos cálido y algo irregular tras el largo periodo de humedad, temperatura y estabilidad climática relativamente elevadas que abarca el tiempo transcurrido del Terciario (con la destacable excepción

del patente descenso térmico registrado en el Oligoceno). En opinión de BENDA (1973) los cambios más significativos hacia un clima seco y menos cálido se debieron producir antes del Tortoniense o en el intervalo entre el Serravaliense y el Tortoniense. Por otra parte, el hecho de que en la rápida diversificación se encuentren implicadas todas o la mayoría de las principales líneas evolutivas que han llegado a la actualidad (fig. 4.5), y de que todas ellas tengan a su vez representantes en la península Ibérica, favorece notablemente la hipótesis de que dicha radiación tuviera lugar en este mismo territorio, o aquí y en el adyacente territorio norteafricano. Conviene recordar a este respecto que la configuración paleogeográfica del sur de la península Ibérica estaba definida por el conjunto de islas y canales marinos que formaban el emergente macizo bético-rifeño (pág. 71; fig. 3.15), lo que constituyó seguramente un buen escenario para una profusa especiación. Finalmente, para el Tortoniense peninsular, las interpretaciones basadas en datos paleontológicos coinciden en señalar la ubicuidad de espacios abiertos y la abundancia de táxones xerófilos (v. ANTUNES & PAIS, 1983; BARRÓN & *al.*, 1996 y las referencias aquí citadas; AGUSTÍ & *al.*, 1999).

Los datos paleoclimáticos y paleogeográficos no contradicen, por tanto y según el anterior razonamiento, la posibilidad de que la radiación de *Thymelaea* se produjera en torno a los 9-10 millones de años (Tortoniense, Mioceno Superior), tal como es estimada con la tasa evolutiva de *Gossypium*. Por el contrario, resulta difícil aceptar, a la luz de estos mismos datos y consideraciones, que ocurriera antes del Mioceno Medio.

Respecto al momento de origen del género poco se puede afirmar en ausencia de fósiles correctamente datados, pero sí aportar alguna apreciación sobre el modo en que pudo ocurrir. El que con la misma tasa anterior la divergencia de los clados que conducen respectivamente a *Daphne* y a *Thymelaea* se estime cercana a 18 m.a. (Burdigaliense, Mioceno Inferior) lleva a considerar que el ancestro de ambos géneros poseyera unas preferencias ecológicas notablemente distintas a las de *Thymelaea*, si bien no tanto de las de *Daphne*. Efectivamente, aunque este último género cuenta con un buen número de especies en la región Mediterránea, presenta en general menor tolerancia a la aridez y mantiene una alta diversidad en las montañas de Eurasia y en la región subtropical del sureste asiático (cf. NITSCHÉ, 1907). MEDUS & PONS (1980) y PALAMAREV (1989) consideran a algunas especies fósiles de *Daphne* inte-



grantes del elemento paleomediterráneo, de carácter mesófilo o mesoxerófilo y compuesto por antecesores más o menos directos de los actuales táxones mediterráneos. Según Palamarev, dicho elemento aparece ya en el Eoceno de manera discreta y sus componentes evolucionan hacia las especies modernas y se extienden en el Mioceno y el Plioceno como respuesta a sucesivos ciclos de aridez climática. En opinión de este mismo autor, tal fenómeno se presenta con relativa claridad durante el Sarmatiense (equivalente en la cronoestratigrafía marina al Serravaliense Superior) y el Tortonense en los territorios que hoy forman las penínsulas mediterráneas (Ibérica, Itálica y Balcánica). Asumiendo la validez de este modelo, cabe aceptar que la dirección evolutiva seguida en las líneas hermanas de *Daphne* y de *Thymelaea* haya estado marcada por una adaptación progresiva a la aridez, producida a partir de un ancestro común de perfil, cuando menos, mesófilo. En todo caso, esta interpretación es consonante con la aceptación generalizada de una evolución *in situ* de las estirpes mediterráneas (xerófilas) a partir de la flora subtropical terciaria (mesófila/ombrófila) (v. MAI, 1989, además de las referencias antes citadas) y se mantiene compatible con lo ya expresado para la radiación de *Thymelaea* en el marco de las dataciones referidas.

De lo visto hasta ahora se desprende, por un lado, que las dataciones del origen y la radiación de *Thymelaea* estimadas a partir de la tasa evolutiva de *Gossypium* se muestran consistentes al ser contrastadas con evidencias independientes de tipo paleoclimático, paleogeográfico y paleontológico; por otro, que dichos sucesos evolutivos es poco probable que fueran previos al Mioceno Medio. Ahora bien, quedaría por ver qué panorama se presenta si se fijan edades posteriores a los sucesos mencionados.

Asumiendo una edad Messiniense para la radiación de *Thymelaea*, se mantiene la validez de las interpretaciones anteriores y, por tanto, este supuesto sería aceptable en los mismos términos que una edad Tortonense. Con independencia de esta afirmación, la singularidad del Messiniense, determinada por la desecación del Mediterráneo, obliga a evaluar las implicaciones que este hecho haya podido tener en la historia evolutiva y, sobre todo, biogeográfica de *Thymelaea*.

Las características geográficas del territorio ibero-mauritano continúan siendo favorables para la radiación de *Thymelaea* en esta ubicación. Al tiempo que persiste la aridez climática asentada en el Tortonense, se amplía el terreno disponible debido a la regresión marina



y a la activa deformación y levantamiento del macizo bético-rifeño, y se ve facilitada la dispersión hacia el sur y el este norteafricano tras el cierre del estrecho sudrifeño. Por otro lado, la comunicación terrestre entre los extremos del Mediterráneo habría podido ser aprovechada por *Thymelaea* para alcanzar su distribución transmediterránea, si bien no existen a este respecto elementos útiles de valoración, ni siquiera por parte de la filogenia.

Resulta a su vez tentador hacer uso de este escenario para explicar la distribución actual de *T. tartonraira*-*T. velutina* (fig. 5.3), como, por otra parte, se ha hecho para otros táxones con un área de distribución fragmentada en el entorno mediterráneo (p. ej. BOCQUET & *al.*, 1978; JEANMONOD & BOCQUET, 1981; LANZA & VANNI, 1990; PALMER & CAMBEFORT, 2000). El análisis de este caso tiene un interés añadido, a saber: demostrar que la biogeografía de *T. tartonraira*-*T. velutina* está relacionada con los eventos característicos del Messiniense invalidaría la posibilidad apuntada de que la radiación de *Thymelaea* hubiera ocurrido en este mismo periodo.

*T. tartonraira* es un arbusto que se extiende de manera disyunta por buena parte de la cuenca mediterránea, desde la península Ibérica y el Magreb hasta Turquía, presentándose en varias de las islas comprendidas entre los dos extremos y, de manera puntual, en las costas continentales de Francia, Italia y Grecia (fig. 5.3). *T. velutina*, especie íntimamente emparentada con la anterior, es endémica de las islas Baleares (Mallorca y Menorca). *T. tartonraira* manifiesta un acentuado polimorfismo, difícil de tipificar (AYMONIN, 1971, 1974; TAN, 1980a); prueba de ello

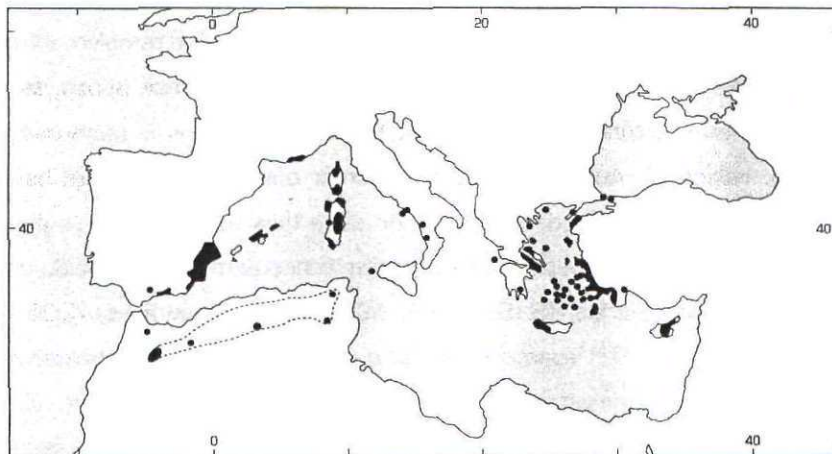


Fig. 5.3. Distribución de *T. tartonraira* s.l. y *T. velutina* (basado en BROWICZ, 1979; TAN, 1980b; URBANI, 1991 y GALICIA HERBADA, 1995). En el Norte de África se han representado poblaciones respaldadas por citas conocidas de herbario; pero, teniendo en cuenta que los datos procedentes de este territorio son comparativamente escasos respecto al resto del Mediterráneo, se ha indicado con línea discontinua el área donde es factible la existencia de otras poblaciones.

son la ingente acumulación de epítetos infraespecíficos y las cinco subespecies y tres variedades reconocidas en la revisión más reciente del género (TAN, 1980a).

La interpretación de distribuciones disjuntas, como la anterior, se ha llevado a cabo tradicionalmente aludiendo a dos procesos básicos: vicarianza y dispersión.

La vicarianza requiere un área de distribución inicial continua que se ve fragmentada con posterioridad por la aparición de barreras naturales. El consecuente aislamiento de las poblaciones favorece entonces su divergencia debido a los efectos de la deriva genética, las mutaciones y la selección. Puesto que la mayoría, si no todos, de los territorios en los que hoy se encuentra *T. tartonraira*-*T. velutina* se sabe que estuvieron conectados por tierra durante la crisis de salinidad del Messiniense, es factible hacer uso de la hipótesis de vicarianza para explicar la distribución actual de este grupo de táxones. Según dicha hipótesis, *T. tartonraira*-*T. velutina* se habría extendido por el Mediterráneo durante el tiempo que duró su desecación; la transgresión marina que acabó con este periodo (hace aproximadamente 5,3 m.a.) habría fragmentado después el área de distribución alcanzada y marcado el inicio de la divergencia de las poblaciones aisladas a partir de ese momento por el mar.

La validez de la hipótesis anterior, sin embargo, se ve puesta en entredicho al ser contrastada con los resultados obtenidos tras analizar las secuencias representantes de varias poblaciones de *T. tartonraira* y de *T. velutina*. En efecto, la divergencia estimada entre tales secuencias se muestra extraordinariamente baja (0-0,72 %), teniendo en cuenta que se asume bajo esta hipótesis un tiempo para dicha divergencia algo superior a los cinco millones de años. Es más, se ha encontrado que llega a ser nula, no sólo entre secuencias correspondientes a *T. tartonraira* (subsp. *thomasi* y subsp. *tartonraira* var. *tartonraira*), sino también entre algunas de éstas y *T. velutina* (*T. tartonraira* subsp. *thomasi*, subsp. *tartonraira* var. *tartonraira* y *T. velutina* B; *T. velutina* A y *T. tartonraira* subsp. *valentina*). Aun con el tremendo error que, a causa de tan baja divergencia, lleva asociada la estimación de la tasa de sustitución a partir de estos datos, se obtiene un rango que ronda el mínimo conocido en angiospermas para los ITS (SUH & al., 1993): aproximadamente  $4,05 \times 10^{-10} \pm 3,02 \times 10^{-10}$  sustituciones/sitio/año, lo que resulta bastante improbable y hasta inverosímil (ver más arriba la discusión sobre la aplicación de la tasa estimada para *Winteraceae*) si, como indican los tests



de heterogeneidad de las tasas de sustitución entre líneas evolutivas, se acepta que ésta no es significativa (pág. 97).

La hipótesis de dispersión postula que las poblaciones geográficamente aisladas se han establecido por dispersión a través de barreras naturales partiendo de otras existentes. Dicha hipótesis permite acomodar los valores de divergencia observados entre las secuencias, la ausencia de un patrón geográfico claro para el polimorfismo y, en último término, la edad pliocena obtenida con la tasa de sustitución de *Gossypium* para el nodo que señala la divergencia de los clados *T. tartonraira*-*T. velutina* y *T. putorioides*-*T. sempervirens*. Por el contrario, hay que hacer notar que las características del fruto y de la semilla en *T. tartonraira* y *T. velutina* sugieren muy poco probable una dispersión a larga distancia. El fruto es seco (aunque *T. velutina* y, de manera testimonial, *T. tartonraira* también producen frutos carnosos) y no posee ninguna otra característica que haga pensar en su consumo por aves u otros agentes de similar capacidad dispersiva. El hecho de que el hipanto, delgado y de consistencia membranácea cuando seco, se mantenga unido al fruto tras su caída de la planta podría, sin embargo, servir a una dispersión por el viento. De todos modos, la efectividad de este mecanismo no parece que pueda ser muy alta y más bien podría estar encaminado a favorecer la salida de los propágulos de unas condiciones inmediatas de competencia. Por otra parte, las semillas, aun siendo relativamente pequeñas, poseen una forma y tamaño poco apropiados para ser dispersadas por el viento y contienen una cantidad de endospermo demasiado escasa como para pensar que resulten consumidas por agentes dispersadores eficaces. Bajo esta hipótesis se presentan además otras dos dificultades: el establecimiento exitoso de nuevas poblaciones que habría de seguir a los eventos de dispersión y el elevado número de veces que esto se tendría que haber repetido al ser igualmente elevado el número de poblaciones separadas por amplias barreras geográficas. Así todo, es necesario llamar la atención sobre la significación que puede tener una capacidad de dispersión supuestamente baja cuando se toma en consideración el tiempo (geológico), ya que el simple reconocimiento de que la dispersión y la colonización de las áreas en cuestión no es imposible puede resultar en una probabilidad de colonización significativa para una magnitud temporal de millones de años (cf. SIMPSON, 1952).

Puesto que los procesos de vicarianza y dispersión no son excluyentes, cabría finalmente la posibilidad de que ambos hubieran entrado



en juego, de manera que el patrón resultante de un proceso de vicarianza habría quedado trastocado a consecuencia del flujo génico asociado al proceso de dispersión. El flujo génico restringe la diferenciación alentada por el aislamiento al incrementar la similitud genética entre poblaciones alejadas (cf. SLATKIN, 1987). Bajo este supuesto, la justificación de divergencias tan bajas en los ITS se ve facilitada teniendo presente que la homogeneización de las secuencias que entran en contacto puede producirse a través de evolución concertada.

A propósito del flujo génico, se debe traer a colación la posibilidad de que éste se produzca o sea reforzado por la dispersión del polen. Desgraciadamente, apenas existen conocimientos empíricos sobre los mecanismos de polinización en *Thymelaea*. TEBAR & LLORENS (1992) apuntan a una polinización anemófila en *T. velutina*, lo mismo que hacen EL-KEBLAWY & FREEMAN (1999) para *T. hirsuta*; pero la efectividad del viento en la difusión del polen de *Thymelaea* a distancias considerables es desconocida. En cualquier caso, la probabilidad de que la alta similitud observada entre todas las secuencias analizadas sea consecuencia de flujo génico vía polen (o vía polen y semillas) se vería disminuida, como sucedía con la dispersión de los propágulos, al considerar el elevado número de poblaciones implicadas.

Viendo que no es posible calibrar la importancia relativa que, en este caso, hayan podido tener la vicarianza y la dispersión, resulta complicado presentar una hipótesis para la distribución y la diversificación de *T. tartonraira*-*T. velutina* que concilie las observaciones reunidas y resulte mínimamente rigurosa. En cualquier caso, parece en exceso arriesgada la hipótesis de una extensión Messiniense, particularmente por lo improbable que se estima que el flujo génico haya podido eliminar todo rastro del esperable patrón geográfico que presentaría la divergencia en un supuesto de vicarianza tan remota. Alternativamente, y aunque sea apartarse un tanto del rigor deseado, se podría proponer un origen post-Messiniense y un área de distribución más extensa que la actual en la orilla norte del Mediterráneo, la cual, dado el carácter termófilo y costero que muestran las poblaciones de este territorio, habría quedado fuertemente mermada y fragmentada tras los sucesivos periodos fríos del Pleistoceno, manteniéndose después en zonas especialmente favorables. A este respecto conviene señalar que las poblaciones más septentrionales de *T. tartonraira* (Provenza) se encuentran situadas en un área de carácter refugio durante este periodo para táxones sensibles al frío (TRIAT-

LAVAL, 1978). Para justificar la presencia en las islas del Mediterráneo occidental sería necesario asumir dispersión desde el continente europeo, lo que, aun siendo cuestionable por los motivos ya expuestos, se vería quizás favorecido por el predominio en esta zona de vientos intensos de componente Norte y Noroeste. Por el contrario, la presencia en la mayoría de las islas del Mediterráneo oriental sería explicable con mayor facilidad teniendo en cuenta que el descenso considerable del nivel del mar ( $-121 \pm 5$  m en el Würm, FAIRBANKS, 1989) ocurrido durante los máximos glaciares del Pleistoceno puso en contacto muchas de estas islas con Europa continental y Anatolia (cf. BEERLI & *al.*, 1996); incluso, no sería descartable que la dispersión en esta región se hubiera visto favorecida por el hombre, pues parece que *T. tartonraira* era utilizada por las antiguas civilizaciones griegas como fuente de fibra para fabricar aparejos navales (BAUMANN, 1993). De mayor dificultad es explicar su ausencia en las islas de Ibiza y de Sicilia, considerando que existen en ambas terrenos ecológicamente favorables y que, en el primer caso, está presente en el territorio ibérico próximo y en Mallorca y Menorca, y en el segundo en la isla de Marettimo y en Calabria. Con los datos disponibles está fuera de alcance evaluar si dichas ausencias son el resultado de sucesos de extinción o fracasos en la dispersión o en la fundación exitosa de nuevas poblaciones.

Retomando la línea argumental planteada para precisar en lo posible la calibración de la filogenia, el siguiente paso lógico es valorar la posibilidad de que la radiación de *Thymelaea* tuviera lugar en el Plioceno. De nuevo, los datos paleoclimáticos no resultan adversos frente a una, ya justificada, localización de dicho suceso en el sur de la península Ibérica-noroeste de África. El carácter termo-xérico del clima persiste en este territorio, el cual se presenta ahora dividido definitivamente por el estrecho de Gibraltar. Esta geografía cabe suponer que fuera y sea un impedimento para la normal dispersión entre ambos territorios; sin embargo, la filogenia no muestra indicación aparente de que haya provocado evento de vicarianza alguno, por lo que es razonable aceptar que tal barrera es permeable para *Thymelaea*. Esto mismo es sugerido por la imperceptible o escasa diferenciación morfológica en cada una de las especies que se encuentran distribuidas a ambos lados del estrecho (*T. villosa*, *T. lanuginosa*, *T. lythroides*, *T. hirsuta*, *T. argentata*, *T. tartonraira*). La ausencia de un patrón filogenético acorde con la aparición de la barrera del estrecho impide que este hecho pueda ser tomado en cuenta en la discusión



presente, si es que efectivamente ha tenido alguna repercusión. No obstante, puede resultar exagerado ignorar que la falta de continuidad terrestre resulte inocua a la diferenciación, de manera que es quizás más acertado sostener que pueda haber jugado un papel favorable en la radiación de *Thymelaea*.

Si los datos paleoclimáticos y paleogeográficos no contradicen, aparentemente, la hipótesis de una radiación pliocena, los resultados filogenéticos se muestran reticentes a aceptar esta hipótesis. Fijando una edad de 5,3 m.a. (inicio del Plioceno) para el nodo que representa la radiación de *Thymelaea*, se obtiene que la divergencia de las líneas evolutivas de *Daphne* y de *Thymelaea* (nodo O, fig. 4.21) ocurrió hace  $9,9 \pm 1,9$  m.a., es decir, en el Tortonense (Mioceno Superior). Este resultado es difícilmente conciliable con la existencia de fósiles de *Daphne* de edad miocena, lo que favorece que la rápida diversificación de *Thymelaea* hubiera tenido lugar antes del Plioceno. Por la misma razón resulta más improbable aún que ocurriera durante el Pleistoceno.

En conclusión, lo discutido a lo largo de este apartado lleva a presentar como hipótesis más favorable que la rápida diversificación de *Thymelaea* sucedió en el Mioceno Superior (Tortonense, Messiniense) y que la divergencia de los clados que conducen a *Daphne* y a *Thymelaea* tuvo lugar en el Mioceno Inferior o Medio. Según esta hipótesis, el origen y diversificación de *Thymelaea* estarían asociados a la tónica general de deterioro ombrotérmico registrada a lo largo del Mioceno. La trayectoria evolutiva que precede a la aparición de *Thymelaea* habría estado marcada por una adaptación progresiva a la aridez climática (asentada ya en el Tortonense) a partir de un ancestro de carácter más exigente. Dicha adaptación, y por tanto el origen del género, se habría producido *in situ*, es decir, en el entorno del mediterráneo. Finalmente, la radiación habría tenido lugar en la península Ibérica, o aquí y en el inmediato territorio norteafricano, respondiendo a unas condiciones ecológicas y a una configuración geográfica aparentemente favorables (termoxericidad, comunidades vegetales abiertas, nuevos territorios libres de competencia, orografía compleja, erosión activa).

A pesar de la ausencia de fósiles de *Thymelaea* y de eventos biogeográficos bien datados y de utilidad para calibrar con precisión la filogenia, la discusión presentada pone de manifiesto la posibilidad de asignar a ésta, al menos, una escala temporal aproximada y de presentar conjuntamente y hasta donde es posible una hipótesis biogeográfica vero-



símil y con cierto fundamento teniendo en cuenta otros datos disponibles. La hipótesis anterior, aun lejos de ser concluyente, resultará por lo menos útil como hipótesis de trabajo para sucesivas investigaciones.

## 5.7. Implicaciones taxonómicas

Bajo el criterio de monofilia estricta (HENNIG, 1966), la validez de *Thymelaea* como grupo taxonómico es apoyada en todos los análisis filogenéticos efectuados, tanto a partir de los caracteres morfológicos, como de los moleculares, como del combinado de ambos conjuntos de caracteres. La solidez de este resultado queda subrayada por los elevados apoyos estadísticos obtenidos (hasta del 100 %) y por la consideración de haber contado con un amplio grupo externo en el que se incluyen los géneros más próximos a *Thymelaea* (TAN, 1980a; VAN DER BANK & *al.*, 2002).

De modo similar, el carácter monofilético y la fuerte cohesión del grupo de táxones que componen la denominada sección *Ligia*, en la que se integran las especies anuales, quedan plasmados en todas las reconstrucciones filogenéticas llevadas a cabo. A este respecto hay que recordar además la delección que comparten en exclusiva las secuencias de todos estos táxones entre las posiciones 418 y 422 (apéndice 7.3), no incluida en los análisis filogenéticos (pág. 84). Tales resultados suponen un nuevo reconocimiento a la singularidad de dicho grupo, tradicionalmente reflejada en las propuestas taxonómicas publicadas desde que FASANO (1788) le otorgara la categoría de género (tab. 1.1). La consideración como género independiente sólo sería discutible dando por válida la posición como grupo hermano del resto de *Thymelaea* que aparece en las hipótesis filogenéticas obtenidas a partir de distancias; pero esta posición es de poca confianza dado el escaso apoyo relativo que recibe. En los análisis con parsimonia, por el contrario, *Ligia* se mantiene en el seno del grupo interno, tanto con los caracteres morfológicos como con los moleculares, lo que favorecería asignarle una categoría infragenérica; sin embargo, tampoco en este caso existe un apoyo suficiente que favorezca esta opción. Por tanto, la ambigüedad de su posición en la filogenia respecto al resto de los táxones incluidos en *Thymelaea* impide basar en estos resultados cualquier valoración acerca de la conveniencia de una u otra categoría taxonómica.

Debido a la ausencia predominante de grupos suficientemente robustos dentro del grupo interno, poco se puede decir, aparte de lo referido a la sección *Ligia*, en apoyo o, menos aún, refutación de lo propuesto en las clasificaciones infragenéricas publicadas con anterioridad. De

todos modos, este resultado, aquí interpretado en parte como reflejo de una rápida diversificación (pág. 140), puede explicar la tendencia histórica a constituir un grupo amplio y enormemente heterogéneo con todos los táxones no incluíbles en la bien caracterizada sección *Ligia* (con la singular excepción del aislamiento de *T. hirsuta* en una sección propia). En otras palabras, la radiación experimentada por *Thymelaea* y el largo reposo cladogenético posterior de buena parte de los clados podría justificar el difícil agrupamiento de unos táxones cuya divergencia se estima relativamente remota y comprimida en el tiempo.

Si bien es cierto que TAN (1980a) presenta una clasificación incomparablemente más divisiva que sus predecesores (tab. 1.1), los caracteres que utiliza para definir secciones y subsecciones son muy poco consistentes y, por lo que respecta a las secciones, ninguno de ellos es sinapomórfico. De entre tales secciones, sólo *Chlamydanthus* es resuelta como grupo monofilético por los caracteres morfológicos. Los caracteres moleculares, en cambio, no aportan grupos concordantes con ninguna de ellas, mientras que sí algunos que trastocan dichos agrupamientos. Es el caso de los clados que reúnen respectivamente a *T. tartonraira*-*T. velutina*-*T. putorioides*-*T. sempervirens* y a *T. procumbens*-*T. coridifolia*-*T. broteriana*-*T. argentata*. No obstante, cualquier apreciación efectuada únicamente a partir de las hipótesis moleculares lleva consigo el riesgo de asumir que la filogenia de los ITS equivale a la de los táxones, considerando que se conocen distintos fenómenos evolutivos capaces de romper dicha equivalencia (v. DOYLE, 1992 y lo discutido en el apartado 5.2). Sin dejar de tener presente esta observación es interesante resaltar el elevado apoyo que obtiene la mayor proximidad filogenética de *T. coridifolia* subsp. *dendrobryum* a *T. procumbens* frente a *T. coridifolia* subsp. *coridifolia*, lo que sugeriría la conveniencia de tratar al primer taxon bien como especie independiente (como ya hizo ROTHMALER, 1935), bien como subespecie de *T. procumbens*. Asimismo, es destacable la marcada divergencia relativa entre las secuencias representantes de las dos poblaciones incluídas de *T. broteriana* (2,16 %; compárese con el 1,21 % de divergencia entre *T. procumbens* y *T. coridifolia* subsp. *coridifolia*), lo cual podría estar apuntando a la existencia de un taxon críptico, teniendo en cuenta que la morfología no ofrece diferencias patentes, salvo el mayor porte y robustez de los individuos que componen la población salmantina.

*T. tartonraira* y *T. velutina* podrían ofrecer un ejemplo contrario a



este último, ya que, siendo ambas claramente distinguibles por su morfología, las secuencias estudiadas aparecen relacionadas sin distinción de la especie a la que se atribuyeron. Semejante patrón de relaciones cabría ser justificado aludiendo a una importante desproporción entre la tasa evolutiva asociada a los caracteres morfológicos y la asociada a los caracteres moleculares (*cf.* SYTSMAN, 1990; KADERET, 1994), de modo que a las patentes diferencias morfológicas corresponde sólo una bajísima (y hasta nula: *T. velutina* B-*T. tartonraira* subsp. *thomasi*, subsp. *tartonraira* var. *tartonraira* y *T. velutina* A-*T. tartonraira* subsp. *valentina*) divergencia molecular, la cual podría, por otro lado, no estar ajustada al grado de resolución permitido por los ITS. De nuevo hay que recalcar que son necesarios otros elementos de juicio que permitan descartar la responsabilidad de cualquiera de los fenómenos evolutivos capaces de generar este mismo patrón filogenético (p. ej. introgresión, *lineage sorting* y evolución convergente). Aunque no dirigidos específicamente a resolver este problema, se han iniciado análisis de RAPDs (*Random Amplified Polymorphic DNA*, WILLIAMS & *al.*, 1990) para un amplio conjunto de poblaciones e individuos de ambas especies y se tiene ya algún resultado que merece ser adelantado. El dendrograma resultante del análisis UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages*) aplicado a la matriz de distancias euclídeas calculadas a partir de los datos de presencia/ausencia de bandas de amplificación muestra la total inclusión de *T. velutina* en uno de los grupos de *T. tartonraira* (fig. 5.4). Este resultado estaría indicando que las relaciones supuestamente anómalas, en cuanto a la inexistencia de un patrón filogenético acorde con una separación nítida de las dos especies, no constituyen una particularidad de los ITS, sino que son congruentes con las expresadas a nivel genómico. En consecuencia, habría que admitir que, efectivamente, la diferenciación morfológica que permite reconocer especies independientes no está acompañada por una divergencia genética cualitativamente equiparable (con independencia de los fenómenos que puedan haber intervenido en la historia evolutiva de los ITS), pues sería poco menos que imposible que cualquiera de los otros fenómenos mencionados hubieran afectado al genoma de manera generalizada (incluyendo probablemente el ADN cloroplástico y el mitocondrial). De confirmarse este extremo, la separación de *T. tartonraira* y *T. velutina* como especies independientes no sería apoyada por los marcadores moleculares estudiados.

Las relaciones filogenéticas entre las secuencias de *T. passerina* y

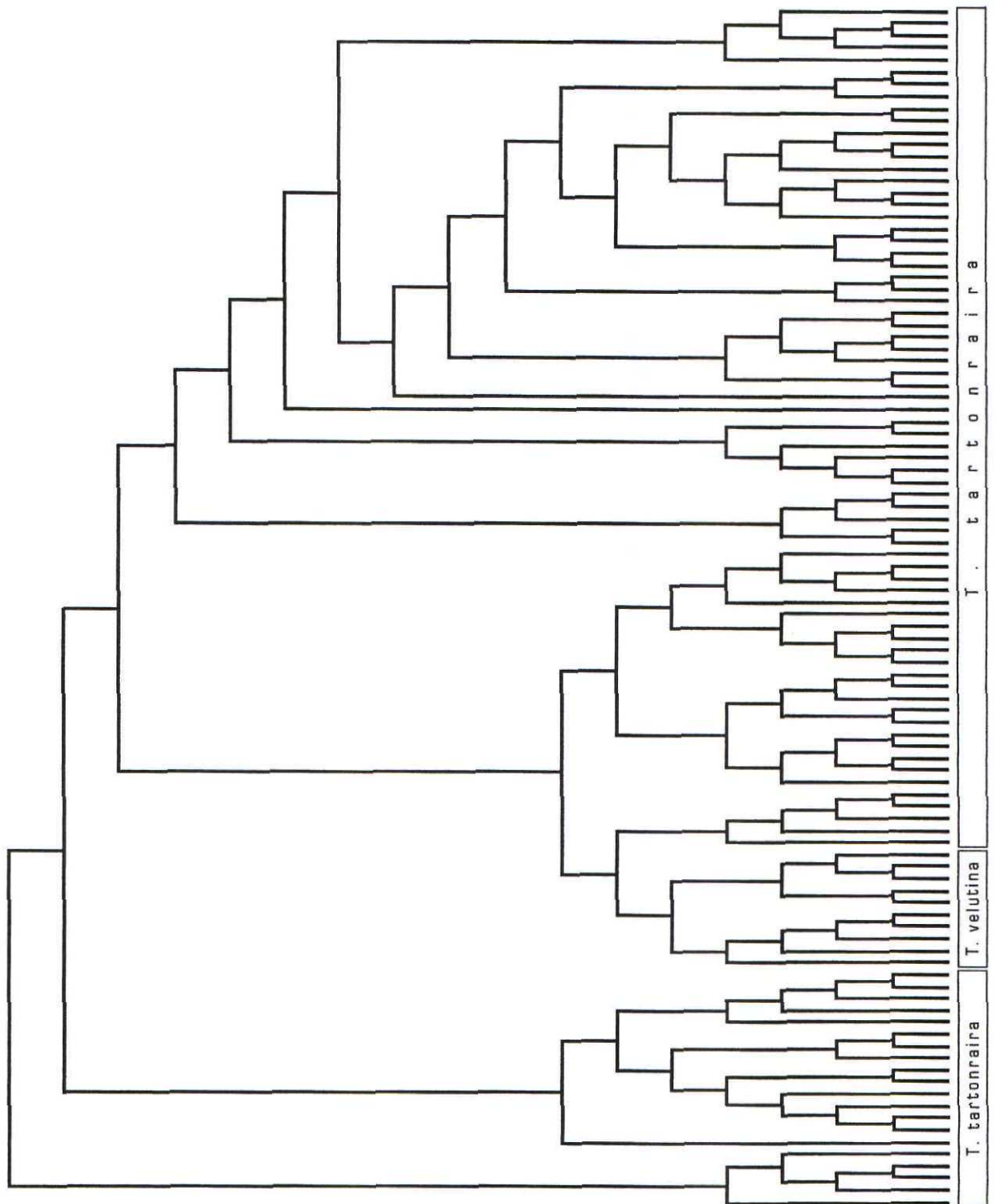


Fig. 5.4. Dendrograma obtenido mediante UPGMA para 131 RAPDs procedentes del escrutinio de 100 individuos pertenecientes a 18 poblaciones de *T. tartonraira* y a 2 de *T. velutina*. Basado en distancias euclídeas (EXCOFFIER Et al., 1992).

*T. salsa* presentan un problema similar al anterior. La agrupación de estas secuencias muestra una correlación con su origen geográfico, pero no con su posición taxonómica, y deja entrever el carácter parafilético de uno y otro taxon. Existen razones para pensar que tal patrón de relaciones a nivel génico es extrapolable al nivel orgánico y que *T. salsa* es un taxon difícilmente justificable.

Las recolecciones de campo y la revisión de pliegos efectuada con motivo de este trabajo permitieron descubrir que en el extremo oriental del Mediterráneo (Turquía, Siria, Palestina e Iraq) existen individuos perfectamente asignables a *T. salsa*, especie a la que se atribuye una distribución ibero-norteafricana (TAN, 1980a). Los caracteres que la diferencian de *T. passerina* son la posesión de flores unisexuales (frente a flores hermafroditas) y el ápice del ovario pubérulo o subglabro (frente a hirtuto) (TAN, 1980a). Este último carácter se ha visto que es poco constante y que, en todo caso, su interpretación admite una notable subjetividad. La pilosidad de tallos y hojas y la forma de éstas no sirven para diferenciar ambas especies, que son glabras y poseen hojas linear-lanceoladas, pero sí son útiles para su delimitación respecto a *T. gussonei* y *T. mesopotamica*. Por lo que se refiere a la expresión sexual, hay que resaltar que en *Thymelaea* es extremadamente compleja, presentándose múltiples combinaciones de sexos, incluso dentro de los propios individuos y a lo largo del tiempo (v. TAN, 1980a; DOMMÉE & al., 1988, 1995; EL-KEBLAWY & FREEMAN, 1999 y las referencias aquí citadas). Como ejemplo bien estudiado está *T. hirsuta* (p. ej. DOMMÉE & al., 1995; EL-KEBLAWY & al., 1995; FREEMAN & al., 1997; EL-KEBLAWY & FREEMAN, 1999). Se ha demostrado que el ambiente juega un papel crucial en la expresión sexual de esta especie, habiéndose observado una segregación espacial de sexos inducida por las condiciones ambientales. Son precisamente estas condiciones, y no una regulación genética, las responsables del mantenimiento de la labilidad sexual encontrada (EL-KEBLAWY & FREEMAN, 1999). No existen estudios similares para otras especies, pero observaciones de campo han permitido descubrir en cantidades nada despreciables flores de ambos sexos ocurriendo en un mismo pie en *T. broteriana* y *T. dioica* e individuos de *T. calycina* con flores hermafroditas, todas ellas especies para las que no se había puesto en duda su carácter dioico (si bien es muy probable que no dejen de serlo funcionalmente). Aunque raramente, en *T. passerina*, *T. mesopotamica*, *T. gussonei* y *T. salsa* es posible encontrar flores unisexuales y flores hermafroditas en un mismo individuo. Por



otro lado, la revisión de un pliego de herbario recogido en Jaén (GDAC 42038) ha desvelado la coexistencia en una misma cuadrícula UTM de 1x1 km de individuos claramente encuadrables en *T. salsa* e individuos claramente encuadrables en *T. passerina*. A estas observaciones conviene añadir que *T. salsa* se localiza en lugares casi siempre más áridos que *T. passerina*. Todos estos datos hacen desconfiar de la expresión sexual como carácter taxonómico útil y permiten sospechar que, como en *T. hirtuta*, en *T. passerina*-*T. salsa* pueda estar regulada por factores ambientales. Aunque son convenientes estudios rigurosos que confirmen este extremo, el dudoso respaldo que ofrece la morfología y los resultados filogenéticos abogan más bien por una subordinación de *T. salsa* a *T. passerina* con la categoría de variedad, como ya propuso MUNBY [*Passerina annua* (Salisb.) Wikstr. var. *salsa* Munby, *Cat. Pl. Alg.*, p. 30 (1866)].

Recientemente se ha propuesto una nueva especie relacionada con el resto de las anuales: *T. bulgarica* Cheshm., localizada en el sur de Bulgaria (CESMEDZIEV, 1997). Frente a *T. passerina*, Cesmedziev justifica este nuevo taxon por la posesión de flores unisexuales, los tallos indumentados, la menor densidad de estomas y la mayor anchura de éstos; respecto a *T. mesopotamica* y *T. gussonei*, por la morfología de los pelos: falcados frente a crispados y rectos, respectivamente. No se ha podido consultar material de esta especie, a pesar de las gestiones llevadas a cabo para conseguir el material tipo, por lo que se prefiere no hacer comentarios al respecto.

Por último, los resultados de los análisis filogenéticos se muestran contrarios a la redefinición del género *Diarthron* publicada por TAN (1982), según la cual *Dendrostellera* y *Stelleropsis* quedaron rebajados al rango de subgénero dentro de *Diarthron*. Los ITS revelan el carácter polifilético de este último y apoyan la recuperación del estatus genérico para cada uno de los tres táxones mencionados; de manera sólida en el caso de *Stelleropsis* (con un apoyo de hasta el 98 %), al mostrar su robusta afinidad con *Wikstroemia*, y de manera no tan sólida pero si constante en el caso de *Dendrostellera* y *Diarthron*, al dar cuenta de la mayor proximidad de este último a *Stellera*.

## **6. CONCLUSIONES**

- Se reconoce por vez primera la presencia de estrofiolo y de carúncula en las semillas de *Thymelaea* y *Daphne*. Ambas estructuras están formadas por células diferenciadas de la exotesta que poseen paredes fuertemente engrosadas y pigmentadas. Su utilidad como carácter diagnóstico queda avalada por la elevada constancia detectada en las especies. La naturaleza sinapomórfica del estrofiolo, sin embargo, no es asegurada en las hipótesis filogenéticas presentadas.
- *Thymelaea* acumula gran cantidad de mucopolisacáridos en las células epidérmicas de las hojas. Este hecho impone serias dificultades al proceso de extracción del ADN con los protocolos más usuales, si bien no parece que afecten a las reacciones de amplificación. Son necesarios estudios experimentales que determinen el papel que desempeñan dichos compuestos, aunque por el carácter xeromórfico de las especies y los ambientes en los que éstas habitan es posible que tengan un valor adaptativo, ya sea reduciendo la transpiración, actuando como reservorios de agua o prestando protección frente a una radiación solar intensa.
- Los caracteres morfológicos estudiados no son capaces de mostrar por sí solos unas relaciones filogenéticas consistentes ni robustas — más allá del importante apoyo que prestan a la monofilia de *Thymelaea* — probablemente debido a un grado de conflicto interno proporcionalmente alto respecto a su bajo número.
- La región trnL-F del ADN cloroplástico presenta problemas para su secuenciación automática; debido a ello y a la baja variabilidad detectada en los fragmentos secuenciados para algunos táxones se estima poco rentable su utilización en un estudio dirigido a resolver relaciones interespecíficas en *Thymelaea*.
- La región de los ITS proporciona suficiente resolución filogenética a distintos niveles taxonómicos, como queda demostrado al resolverse de manera consistente y robusta las relaciones entre *Thymelaea* y otros géneros próximos y entre buena parte de las especies y subespecies dentro de *Thymelaea*.
- La débil concordancia y complementariedad entre las señales filogenéticas contenidas en los caracteres morfológicos y en los molecula-



res no consigue sobreponerse a las nuevas dosis de homoplasia que surgen de su combinación, como parece desprenderse de los resultados de su análisis conjunto. En ellos se observa que ni es paliado el efecto del error de muestreo y del conflicto interno asociados a los caracteres morfológicos, ni superada la baja resolución que aportan los caracteres moleculares a los niveles profundos del grupo interno.

► *Thymelaea* se revela monofilético en todos los análisis llevados a cabo, tanto con los caracteres morfológicos, como con los moleculares, como con el combinado de ambos tipos de caracteres.

► Los resultados de los análisis sugieren que *Thymelaea* ha experimentado una diversificación rápida o simultánea tras su constitución como entidad independiente dentro de la familia. Ya entonces habrían quedado dispuestas la mayoría de las líneas evolutivas que integran el género, las cuales, salvo pocas excepciones, parecen haberse mantenido relativamente estables hasta la actualidad.

► Se han detectado secuencias introgresantes de *T. granatensis* en *T. sanamunda* y en *T. pubescens* subsp. *elliptica*. Estas secuencias afectan a poblaciones andaluzas y desbordan el área de simpatria de los tres táxones. Por la aparente localización de las secuencias introgresantes en un ambiente ecogeográfico particular y por su presencia en poblaciones asignables a especies diferentes, se especula que los genomas introgresados puedan tener un valor selectivo superior al de las estirpes puras, atribuible quizás a la transferencia de adaptaciones favorables desde *T. granatensis*. Es la primera vez que se informa de la participación de *T. granatensis* en un proceso de reticulación.

► La radiación de *Thymelaea* se debió producir en el Mioceno Superior (hace entre 11,2 y 5,3 millones de años) y la divergencia de los clados que conducen a *Daphne* y a *Thymelaea* en el Mioceno Inferior o Medio (23,8-11,2 m.a.). Según la hipótesis que se presenta, tanto el origen como la diversificación de *Thymelaea* responderían a la tónica general de deterioro ombrotérmico registrada a lo largo del Mioceno. La trayectoria evolutiva que precede a la aparición de *Thymelaea* habría estado marcada por una adaptación progresiva a la aridez climática (asentada ya en el Tortoniense) a partir de un ancestro de carácter más exigente.

Dicha adaptación, y por consiguiente el origen del género, se habría producido *in situ*, es decir, en el entorno del Mediterráneo. Finalmente, la radiación habría tenido lugar en la península Ibérica, o aquí y en el inmediato territorio norteafricano, respondiendo a unas condiciones ecológicas y a una configuración geográfica aparentemente favorables (termoxericidad, comunidades vegetales abiertas, nuevos territorios libres de competencia, orografía compleja, erosión activa).

- La extensión y la diversificación del complejo *T. tartonraira-T. velutina* se estima relativamente reciente; en todo caso, posterior al Messiniense (Mioceno Superior). En este grupo se ha detectado una importante desproporción entre la tasa evolutiva asociada a los caracteres morfológicos y la asociada a los caracteres moleculares, de modo que a las patentes diferencias morfológicas corresponde sólo una bajísima o nula divergencia molecular.
- *Daphne* es apoyado como grupo hermano de *Thymelaea* por la región de los ITS, confirmando así lo sugerido por TAN (1980a).
- *Diarthron*, tal y como fue redefinido por TAN (1982), es polifilético. Los datos moleculares apoyan la separación anterior a esta propuesta en los géneros *Diarthron*, *Dendrostellera* y *Stelleropsis*.
- Los análisis filogenéticos confirman la naturalidad (monofilia) de la sección *Ligia*, no así del resto de las secciones reconocidas en la revisión más reciente del género (TAN, 1980a).
- Los datos recopilados y los resultados de los análisis filogenéticos sugieren el rechazo de *T. salsa* como especie independiente y su consideración, a lo sumo, como variedad de *T. passerina*. En cualquier caso, la presencia al este del Mediterráneo de especímenes indiscutiblemente asignables a este taxon amplía el área de distribución ibero-norteafricana asignada hasta el momento.

## **7. APÉNDICES**



## 7.1. Material utilizado en los análisis morfológicos

Pliegos, lotes de semillas y caracteres morfológicos estudiados en cada uno de ellos. Para cada taxon se indican primero los pliegos, ordenados según el código de herbario (v. final de este apéndice para su identificación) y el número de registro, y después los lotes de semillas (colectas propias de este material sin pliego de referencia), cada uno de los cuales corresponde a una población identificada por un número romano, que es seguido por los individuos (en números arábigos) a los que pertenecen las semillas examinadas (siempre más de una por individuo). Entre corchetes quedan señalados la procedencia geográfica del material y los caracteres estudiados (v. págs. 22 a 31 para su identificación).

***Thymelaea antiatlantica* Maire:** BCF48618 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH02314 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH02315 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97201 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH97202 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86680 [Marruecos] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86681 [Marruecos] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea argentata* (Lam.) Pau:** BC56444 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22]. BC652482 [España (Almería)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. BCC [España (Valencia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. BCC [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. BCC [España (Alicante)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22]. BCF5930 [España (Murcia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. BCF5933 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH93029 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA388899 [España (Alicante)] [1, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA556547 [España (Alicante)] [1, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA586992 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA628293 [España (Valencia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MACB10459 [España (Murcia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MACB34302 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2, 3, 4 [España (Alicante)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea aucheri* Meisn.:** E18905 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. E18906 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Siria] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Siria] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea broteriana* Cout.:** DGH92022 [España (Salamanca)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH93031 [Portugal (Minho)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH94040 [Portugal (Douro Litoral)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95077 [España (Pontevedra)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA587943 [Portugal (Tras os Montes)] [1, 5, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3, 4 [Portugal (Douro Litoral)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 [España (Salamanca)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea calycina* (Lapeyr.) Meisn.:** DGH94059 [España (Lérida)] [1, 5, 6, 8]. DGH96173 [Francia (Ariège)] [1, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH96174 [Francia (Ariège)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. I-1, 2, 3, 4, 5, 6 [España (Lérida)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3 [Francia (Ariège)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea cilicica* Meisn.:** E86678 [Turquía] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86679 [Turquía] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G86317 [Turquía] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. G86318 [Siria] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. GAZI [Turquía]

[1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea coridifolia subsp. coridifolia (Lam.) Endl.***: BCF6192 [España (Cantabria)] [5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95078 [España (La Coruña)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95082 [España (Asturias)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95084 [España (Cantabria)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3, 4, 5 [España (La Coruña)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4, 5 [España (Asturias)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea coridifolia subsp. dendrobryum (Rothm.) M. Lainz***: BCC [España (Asturias)] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22]. DGH01296 [Portugal (Beira Alta)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01321 [España (León)] [1, 5, 9, 10, 11, 14, 16]. DGH95076 [España (Zamora)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95081 [España (Asturias)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95139 [España (Asturias)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95140 [España (León)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95141 [España (León)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95142 [España (León)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 16]. DGH95143 [España (León)] [1, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2, 3, 4, 5 [España (Zamora)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea dioica (Gouan) All.***: DGH91012 [Francia (Basses-Pyrénées)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95123 [Francia (Basses-Pyrénées)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95127 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95128 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95130 [España (Lérida)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95133 [España (Lérida)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96176 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96177 [España (Gerona)] [1, 3, 4, 5, 6, 7, 8]. DGH96178 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH96181 [Francia (Alpes-de-Haute-Provence)] [1, 5]. I-1, 2, 3 [España (Navarra)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2 [España (Lérida)] [17, 19, 20, 21, 22]. III-1, 2, 3, 4, 5 [España (Gerona)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea gattefossei K. Tan***: K [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11]. P219420 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11]. P219421 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea granatensis (Pau) Lacaita***: DGH92023 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11]. DGH95091 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95092 [España (Jaén)] [1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95093 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97217 [España (Jaén)] [1, 2, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 16]. MA480384 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA480387 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2, 3, 4, 5 [España (Jaén)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea gussonei Boreau***: BC125066 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH01299 [España (Menorca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86673 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86677 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. G863110 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863111 [Italia (Sicilia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863114 [Italia (Sicilia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863117 [Italia (Sicilia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863123 [Italia (Sicilia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863137 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863144 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863152 [Siria-Líbano] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G86319 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [*sub T. passerina*] [*T. gussonei* / *T. mesopotamica*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [*sub T. passerina*] [*T. gussonei* / *T. mesopotamica*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [*sub T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [*sub T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22].



21, 22]. GDA40120 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA621249 [España (Menorca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MACB17720 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea hirsuta* (L.) Endl.:** DGH02316 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02317 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02318 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH88002 [España (Castellón)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95074 [España (Valencia)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95075 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95109 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95149 [España (Cádiz)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96186 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97208 [España (Cádiz)] [1, 2, 3, 4, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA577017 [España (Ibiza)] [1, 5, 9, 11, 14, 16]. MA588662 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA591233 [España (Almería)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA616852 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA628291 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. I-1 [España (Alicante)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea lanuginosa* (Lam.) Ceballos & C. Vicioso:** BC56434 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22]. BCF6205 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH97205 [España (Cádiz)] [1, 2, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH97207 [España (Cádiz)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3 [España (Cádiz)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea lythroides* Barratte & Murb.:** BC676700 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. BCF5935 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. BM [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH00194 [Marruecos] [1, 2, 5, 6, 9, 11, 12, 16]. DGH95136 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 16]. MA398915 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA561033 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA596074 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA610819 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA625266 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. I-1 [Marruecos] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea mesopotamica* (Jeffrey) Peterson:** DGH83240 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E18908 [Palestina] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863133 [Libano] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863134 [Libano] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863136 [?] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863138 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863140 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863141 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863142 [Irán] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863143 [Siria-Libano] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863146 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863147 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863148 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863149 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863150 [Siria-Libano] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863151 [Siria-Libano] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863153 [Siria-Libano] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863155 [Siria-Libano] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863112 [Jordania] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863113 [Irak] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863118 [Turquía] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19,



20, 21, 22]. G863121 [Irak] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863122 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863124 [Irán] [*sub Lygia aucheri*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863125 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863126 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863127 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863128 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863129 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863131 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863132 [Siria] [*sub Lygia pubescens*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [*sub T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Arabia Saudí] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea microphylla* Coss. & Dur.:** BC56439 [Túnez] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. BM [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86682 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86683 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86686 [Argelia] [1, 5, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. E86687 [Libia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86689 [Túnez] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86691 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. E86692 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863157 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. G863159 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863162 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. G863167 [Libia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863169 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. G863170 (?) [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863172 [Libia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Libia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. K [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22].

***Thymelaea passerina* (L.) Coss. & Germ.:** BC676701 [Eslovaquia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH01300 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02313 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH96169 [España (Madrid)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH97216 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH97218 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97219 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863120 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. GDA42756 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Afganistán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Afganistán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Chipre] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [India] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2 [España (Madrid)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2 [España (Granada)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea procumbens* A. Fern. & R. Fern.:** DGH92020 [España (Salamanca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH92021 [España (Salamanca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95066 [España (Salamanca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95071 [España (Salamanca)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95072 [Portugal (Beira Alta)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95073 [Portugal (Beira Alta)] [1, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA597104 [España (Salamanca)] [1, 5, 9,

11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3 [Portugal (Beira Alta)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4, 5 [España (Salamanca)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea pubescens* (L.) Meisn.:** DGH00280 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01306 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH02307 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02308 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02310 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02311 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH91006 [España (Madrid)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH91007 [España (Huesca)] [1, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH94054 [España (Córdoba)] [1, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 14, 16]. DGH95094 [España (Córdoba)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95104 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95119 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95121 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95135 [España (Teruel)] [1, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97211 [España (Valladolid)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97212 [España (Jaén)] [1, 5, 6, 8]. MA566383 [España (Segovia)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA591163 [España (Almería)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA592767 [España (Lérida)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA595946 [España (Guadalajara)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA629155 [España (Castellón)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 13, 16].

***Thymelaea putorioides* Emb. et Maire:** DGH00268 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00269 [Marruecos] [1, 2, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH00270 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH00271 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. P83279 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 13, 14]. P83281 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 13, 14]. I-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 [Marruecos] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea ruizii* Loscos:** DGH00188 [España (Álava)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH91008 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95083 [España (Cantabria)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95085 [España (Soria)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95087 [España (Vizcaya)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96209 [España (Navarra)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96210 [España (Navarra)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 19, 20, 21, 22]. MA586745 [Portugal] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1 [España (Navarra)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1 [España (Navarra)] [17, 19, 20, 21, 22]. III-1 [España (Vizcaya)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea salsa* Murb.:** DGH00274 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH00275 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH02319 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH02320 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH98229 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH98232 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH98233 [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. GDA11064 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. GDA25536 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. GDA6127 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. GDAC29622 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Palestina] [sub *T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [sub *T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irak] [sub *T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Siria] [sub *T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [sub *T. passerina*] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. LD120487 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. LD120487 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. LD120488 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. LD120489 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. MA614887 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1,



2, 3 [Marruecos] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea sanamunda* All.:** BC651647 [España (Madrid)] [1, 5, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. BC651648 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. BCF5908 [España (Tarragona)] [1, 5, 9, 10, 11, 13, 15, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH01291 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01292 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01295 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01303 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22]. DGH02309 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. EMMA [España (Tarragona)] [1, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA398928 [Francia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA572997 [España (Madrid)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA582361 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11, 12, 14, 16]. MA589956 [Francia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA615716 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA616717 [España (La Rioja)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MACB41739 [España (Ávila)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MACB5199 [España (Jaén)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea sempervirens* Murb.:** LD120486 [Túnez] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea subrepens* Lange:** DGH94038 [España (Cuenca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH94039 [España (Teruel)] [1, 5]. DGH95134 [España (Cuenca)] [1, 5, 9, 11, 13, 14, 16]. DGH96156 [España (Cuenca)] [1, 5, 9, 11, 13, 14, 16]. DGH96160 [España (Teruel)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA614856 [España (Cuenca)] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3, 4 [España (Cuenca)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2 [España (Teruel)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea tartonraira* (L.) All.:** BC56421 [Italia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. BC56425 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. BC618833 [Francia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. BC674739 [Francia (Córcega)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. BC674740 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 22]. BM [Grecia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH00256 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00257 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00258 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00259 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00260 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00261 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00262 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH92025 [Grecia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH93028 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 11, 13, 16]. DGH94042 [España (Valencia)] [1, 5]. DGH94043 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94045 [España (Albacete)] [1, 5]. DGH94047 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94048 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94049 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94050 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94053 [España (Almería)] [1, 5]. DGH95095 [España (Valencia)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95096 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95097 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 11, 13, 14, 16]. DGH95099 [España (Murcia)] [1, 5, 9, 11, 13, 14, 16]. DGH95100 [España (Murcia)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95102 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95103 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95105 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95106 [España (Almería)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95110 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95111 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95112 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95116 [España (Granada)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95117 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95118 [España (Granada)] [1, 5, 9, 11]. DGH95150 [Francia (Bouches-du-Rhône)] [1, 5]. DGH96164 [Grecia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96166 [Grecia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96167 [Grecia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH96168 [Grecia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97221 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97222 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97223 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA592827 [España



(Alicante)) [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MACB45496 [Chipre] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2 [España (Albacete)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4 [España (Murcia)] [17, 19, 20, 21, 22]. III-1, 2 [España (Murcia)] [17, 19, 20, 21, 22]. IV-1, 2, 3, 4, 5 [España (Granada)] [17, 19, 20, 21, 22]. V-1, 2, 3, 4 [España (Granada)] [17, 19, 20, 21, 22]. VI-1, 2 [España (Valencia)] [17, 19, 20, 21, 22]. VII-1, 2, 3, 4, 5 [España (Almería)] [17, 19, 20, 21, 22]. VIII-1, 2, 3, 4 [Marruecos] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea tinctoria subsp. tinctoria* (Pourr.) Endl.:** DGH00193 [España (Tarragona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH01304 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH94032 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH94033 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH94046 [España (Murcia)] [1, 5]. DGH94063 [España (Barcelona)] [1, 5]. DGH94065 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95132 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96162 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA569422 [España (Castellón)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA580578 [España (Zaragoza)] [1, 5, 9, 11, 13, 14, 16]. MA611665 [España (Tarragona)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. I-1, 2, 3, 4, 5 [España (Huesca)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4, 5 [España (Barcelona)] [17, 19, 20, 21, 22]. III-1, 2, 3, 4, 5 [España (Murcia)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea tinctoria subsp. nivalis* (Ramond) Nyman:** DGH91011 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95090 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH95125 [España (Huesca)] [1, 5]. DGH95126 [España (Navarra)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. DGH95131 [España (Barcelona)] [1, 5]. DGH96180 [España (Huesca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. I-1, 2 [España (Navarra)] [17, 19, 20, 21, 22]. II-1, 2, 3, 4 [España (Huesca)] [17, 19, 20, 21, 22]. III-1, 2, 3, 4, 5 [España (Barcelona)] [17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea velutina* (Pourr. ex Cambess.) Endl.:** BCC [España (Mallorca)] [1, 5, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00263 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00264 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00266 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00267 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH91005 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH94035 [España (Menorca)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH96163 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA618186 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Thymelaea villosa* (L.) Endl.:** DGH91010 [España (Badajoz)] [1, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH92026 [España (Badajoz)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH92027 [España (Ciudad Real)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96185 [España (Cáceres)] [1, 5]. DGH97204 [España (Cádiz)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA545605 [España (Toledo)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA627144 [España (Ciudad Real)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22].

***Thymelaea virescens* Meisn.:** BM [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH97195 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86702 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22].

***Thymelaea virgata* (Desf.) Endl.:** BM [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH00272 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00273 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00276 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH00277 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97196 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97197 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH97200 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86698 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86699 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86700 [Argelia]

[1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86701 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86704 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86706 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86708 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86709 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86710 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86712 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86714 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86716 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86717 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86718 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86719 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86720 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86721 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86722 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86723 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86724 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86725 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. G863173 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863178 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863179 [Marruecos] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863181 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G863184 [Argelia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. VI-1, 2 [Marruecos] [17, 19, 20, 21, 22].

***Daphne cneorum* L.:** DGH90004 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH94060 [España (Lérida)] [1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH95147 [España (Huesca)] [1, 5, 6, 8]. DGH95214 [Andorra] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA322600 [España (Cantabria)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA359693 [Francia] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA399325 [España (Cantabria)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. MA484745 [España (Cantabria)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. MA514877 [Andorra] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA545535 [España (Huesca)] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA569600 [España (Soria)] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Daphne gnidium* L.:** DGH87001 [España (Madrid)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. DGH96183 [España (León)] [1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. MA358784 [España (Badajoz)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA360604 [Italia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA381989 [Francia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA385029 [Portugal] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA398937 [España (Formentera)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA398989 [España (Valencia)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA412769 [Portugal] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA439484 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA462077 [España (Málaga)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA471791 [España (Tenerife)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA479336 [Portugal] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA497686 [Francia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA526020 [España (Cáceres)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA528909 [España (Gerona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA55598 [España (Toledo)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA561588 [España (Castellón)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA587503 [España (Alicante)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. MA596729 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA599702 [España (Tenerife)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA609610 [España (Albacete)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA610818 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA616851 [España (Almería)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA619713 [España (Mallorca)] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. MA623303 [Francia (Córcega)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16]. MAB3285 [España (Barcelona)] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA83297 [Marruecos] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22]. MA83304 [Argelia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22].

***Diarthron (Stelleropsis) antoninae* (Pobed.) K. Tan:** DGH81243 [Irán] [1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86742 [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12,



13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22].

***Diarthron (Dendrostellera) lessertii* (Wikstr.) K. Tan:** BM [Irán] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. DGH81242 [Irán] [1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86741 [Pakistán] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86744 [Irán] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA417751 [Irán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Diarthron vesiculosum* (Fisch. & Mey. ex Kar. & Kir.) C.A. Meyer:** BM [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22]. DGH81241 [Irán] [1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Turquía] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Afganistán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. K [Irán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. MA309024 [?] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22]. MA364483 [?] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22].

***Stellera chamaejasme* L.:** E45833 [China] [1, 3, 4, 5]. E45838 [China] [1, 2, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86735 [Mongolia] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86799 [Bután] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86800 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86802 [Nepal] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86803 [Nepal] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86812 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86813 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86816 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86818 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86819 [China] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 19, 20, 21, 22]. E86821 [China] [5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86830 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86836 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86841 [China] [5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. K [Rusia] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22].

***Wikstroemia (Restella) albertii* (Regel) Domke:** BM [Uzbekistán] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86726 [Uzbekistán] [1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22]. E86727 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86728 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86729 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86730 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E86737 [Tadjikistán] [1, 3, 4, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G86311 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G86313 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G86314 [Turkmenistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. G86315 [Uzbekistán] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16].

***Wikstroemia canescens* Meisn.:** E76112 [Nepal] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E81192 [Nepal] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E81194 [Nepal] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E81578 [Nepal] [1, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16]. E81846 [Nepal] [1, 3, 4, 5]. E81849 [Nepal] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86747 [India] [1, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. E86762 [India] [1, 2, 5, 6, 8]. E86767 [China] [1, 2, 5, 6, 8].

BC\* Instituto Botánico de Barcelona. Barcelona, España.

BCC Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Barcelona, España.

BCF Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. Barcelona, España.

BM Museo de Historia Natural. Londres, Inglaterra.

DGH Colectas propias o en posesión del autor.



E	Reales Jardines Botánicos. Edimburgo, Escocia.
EMMA	Departamento de Silvopascicultura (Botánica), Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Universidad Politécnica. Madrid, España.
G*	Jardín Botánico de Ginebra. Ginebra, Suiza.
GAZI	Universidad de Gazi. Ankara, Turquía.
GDA	Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. Granada, España.
GDAC	Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Ciencias, Universidad de Granada. Granada, España.
K	Reales Jardines Botánicos de Kew. Richmond, Surrey, Inglaterra.
LD	Museo Botánico. Lund, Suecia.
MA*	Real Jardín Botánico de Madrid. Madrid, España.
MACB	Departamento de Botánica, Facultad de Biología, Universidad Complutense. Madrid, España.
P	Museo Nacional de Historia Natural. París, Francia.
TARI	Instituto de Investigación de los Bosques y Espacios Naturales. Teherán, Irán.

\* En diferentes ocasiones se trató de acceder al material prestado por los herbarios B, BC, G, MA y SEV al Real Jardín Botánico de Madrid para la revisión del género en el marco del proyecto *Flora Iberica*. Las gestiones efectuadas, tanto a través de dicha institución como a través del propio autor de la revisión (en cuya posesión se haya el material mencionado desde enero de 1993), resultaron infructuosas.

## 7.2. Procedencia de las secuencias de ADN

Material del que proceden las secuencias de ADN analizadas. Además del taxon se indica el origen geográfico, los colectores, el pliego testigo, el código de referencia en el banco de secuencias del Laboratorio de Biología Molecular Europeo (EMBL) y el método de desecación utilizado (S: gel de sílice; P: prensado; F: sin desecar). Los códigos de herbario pueden identificarse al final del apéndice 7.1.

TAXON (POBLACIÓN)	ORIGEN	COLECTORES	TESTIGO	Ref. EMBL	DES.
<i>Thymelaea antiatlantica</i> Maire	Marruecos: Taliouine, Antiatlas.	D. Galicia & al.	DGH97201	AJ549480	S
<i>Thymelaea argentata</i> (Lam.) Pau	España: La Nucia, Alicante.	D. Galicia & al.	DGH93029	AJ549489	S
<i>Thymelaea aucheri</i> Meisn.	Turquía: Yesilkent, Hatay.	J. Darrah	E18906	AJ549445	P
<i>Thymelaea broteriana</i> Cout. (A)	España: Forcarei, Pontevedra.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95077	AJ549487	S
<i>Thymelaea broteriana</i> Cout. (B)	España: Sierra de Villasrubias, Salamanca.	D. Galicia & al.	DGH95067	AJ549488	S
<i>Thymelaea calycina</i> (Lapeyr.) Meisn.	España: Estany de Naorte, Pirineos, Lérida.	D. Galicia & F. Domínguez	DGH94059	AJ549474	S
<i>Thymelaea cilicica</i> Meisn.	Turquía: Demirkazik, Aladaglar, Nidge.	Z. Aytan & N. Adigüzel	GAZI s.n.	AJ549446	P
<i>Thymelaea coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i> (Lam.) Endl.	España: Cabruñana-Los Llanos, Asturias.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95082	AJ549486	S
<i>Thymelaea coridifolia</i> subsp. <i>dendrobryum</i> (Rothm.) M. Lainz	España: Laguna de los Peces, Sierra Segundera, Zamora.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95076	AJ549485	S
<i>Thymelaea dioica</i> (Gouan) All. (A)	España: Portillo de Leja, Pirineos, Navarra.	D. Galicia & M. Fernández	-	AJ549467	S
<i>Thymelaea dioica</i> (Gouan) All. (B)	España: Queralbs, Pirineos, Girona.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95128	AJ549468	S
<i>Thymelaea granatensis</i> (Pau) Lacaita (A)	España: Cabañas, Sierra del Pozo, Jaén.	D. Galicia & J.A. López	DGH95091	AJ549469	S
<i>Thymelaea granatensis</i> (Pau) Lacaita (B)	España: Miramundo, Sierra de Mágina Jaén.	D. Galicia & J.A. López	DGH95092	AJ549470	S
<i>Thymelaea gussonei</i> Boreau	España: S'Almudaina, Menorca, Baleares.	P. Fraga	DGH01298	AJ549448	S
<i>Thymelaea hirsuta</i> (L.) Endl.	España: Sierra de la Contraviesa, Granada.	D. Galicia & al.	DGH95107	AJ549477	S
<i>Thymelaea lanuginosa</i> (Lam.) Ceballos & C. Vicioso	España: Punta Mala, San Roque, Cádiz.	D. Galicia & L. Moreno	DGH97205	AJ549476	S
<i>Thymelaea lythroides</i> Baratte. & Murb.	Marruecos: La Mamora, Kénitra - Sidi-allal-el-Baharaoui.	D. Galicia & al.	DGH97203	AJ549475	S
<i>Thymelaea mesopotamica</i> (Jeffrey) Peterson	Irán: Araghin, Bandar-Abbas.	Mozaffarian & al.	DGH83240	AJ549447	P
<i>Thymelaea microphylla</i> Coss. & Dur.	Túnez: Moulares.	P.H. Davis	E86689	AJ549482	P
<i>Thymelaea passerina</i> (L.) Coss. & Germ.	España: Perales de Tajuña, Madrid.	D. Galicia	DGH96169	AJ549442	S
<i>Thymelaea procumbens</i> A. Fern. & R. Fern.	España: Villasrubias, Salamanca.	D. Galicia & al.	DGH95070	AJ549484	S
<i>Thymelaea pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i> (L.) Meisn.	España: Puente la Reina de Jaca, Pirineos, Huesca.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95121	AJ549461	S



<i>Thymelaea pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> (L.) Meissn. (A)	España: Sierra de Gádor, Almería.	D. Galicia & al.	DGH95104	AJ549463	S
<i>Thymelaea pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> (L.) Meissn. (B)	España: Sierra de la Horconera, Córdoba.	D. Galicia & J.A. López	DGH95094	AJ549464	S
<i>Thymelaea pubescens</i> subsp. <i>thesioides</i> (L.) Meissn.	España: Redueña, Madrid.	D. Galicia & L. Moreno	DGH91006	AJ549462	S
<i>Thymelaea putorioides</i> Emb. et Maire	Marruecos: oued Tessaout, Alto Atlas.	D. Galicia & al.	DGH00271	AJ549459	S
<i>Thymelaea ruizii</i> Loscos (A)	España: Picos de Europa, Cantabria.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95083	AJ549471	S
<i>Thymelaea ruizii</i> Loscos (B)	España: San Juan de la Peña, Huesca.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95120	AJ549472	S
<i>Thymelaea salsa</i> Murb. (A)	Marruecos: Dayet Aoua, Atlas Medio.	D. Galicia & al.	DGH99245	AJ549443	P
<i>Thymelaea salsa</i> Murb. (B)	Turquía: Zelve, Capadocia.	D. Galicia & al.	DGH98232	AJ549444	P
<i>Thymelaea sanamunda</i> All. (A)	España: Albanyá, Pirineos, Gerona.	D. Galicia & O. Bellido	DGH01291	AJ549465	S
<i>Thymelaea sanamunda</i> All. (B)	España: Sierra de Cazorla, Jaén.	D. Galicia & J.A. López	DGH95089	AJ549466	P
<i>Thymelaea sempervirens</i> Murb.	Túnez: Sakket.	Murbeck	LD12048	AJ549460	P
<i>Thymelaea subrepens</i> Lange	España: Puente Vadillos, Serranía de Cuenca, Cuenca.	D. Galicia & M. Morales	DGH95134	AJ549473	S
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> (L.) All.	Francia: Les Goudes, Bouches-du-Rhône.	F. Domínguez & J.C. Moreno	DGH95150	AJ549454	S
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i> (L.) All.	Marruecos: Dayet Aoua, Atlas Medio.	D. Galicia & al.	DGH99246	AJ549455	S
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>angustifolia</i> (Boiss.) Goday & Chueca	España: Sierra de Almijara, Granada.	D. Galicia & al.	DGH95113	AJ549457	S
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>argentea</i> (Sm.) Holmboe	Turquía: Karakoy.	D. Galicia & al.	DGH98230	AJ549458	P
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>thomasi</i> (Duby) Briq.	Francia: Córcega.	A. Fridlender	-	AJ549453	S
<i>Thymelaea tartonraira</i> subsp. <i>valentina</i> (Pau) O. Bolòs & Vigo	España: Barranco de la Murta, Alzira, Valencia.	D. Galicia & al.	DGH95095	AJ549456	S
<i>Thymelaea tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i> (Pourn.) Endl.	España: Candasnos-Peñalba, valle del Ebro, Huesca.	D. Galicia & F. Domínguez	DGH94065	AJ549450	S
<i>Thymelaea tinctoria</i> subsp. <i>navalis</i> (Ramond) Nyman	España: Portillo de Leja, Pirineos, Navarra.	D. Galicia & M. Fernández	DGH95126	AJ549449	S
<i>Thymelaea velutina</i> (Pourn. ex Cambess.) Endl. (A)	España: Puig de Massanella, Mallorca, Baleares.	J.A. López & al.	DGH96163	AJ549451	P
<i>Thymelaea velutina</i> (Pourn. ex Cambess.) Endl. (B)	España: Cala Pilar, Menorca, Baleares.	D. Galicia & al.	DGH94036	AJ549452	S
<i>Thymelaea villosa</i> (L.) Endl.	España: Los Barrios, Cádiz.	D. Galicia & L. Moreno	DGH97204	AJ549483	S
<i>Thymelaea virescens</i> Meissn.	Marruecos: Col du Tagalm, Alto Atlas.	D. Galicia & al.	DGH97195	AJ549481	S
<i>Thymelaea virgata</i> subsp. <i>broussonetii</i> (Ball) K. Tan (A)	Marruecos: Col du Zad, Atlas Medio.	D. Galicia & al.	DGH97196	AJ549478	S
<i>Thymelaea virgata</i> subsp. <i>broussonetii</i> (Ball) K. Tan (B)	Marruecos: Jbel Bouhalla, Rif, Bab Taza.	D. Galicia & al.	DGH99250	AJ549479	P
<i>Daphne cneorum</i> L.	Andorra: Port de Cabris, Pirineos.	D. Galicia & al.	-	AJ549490	S



<i>Daphne gnidium</i> L.	España: Paradela del Río, León.	D. Galicia & F. Domínguez	DGH96183	AJ549491	P
<i>Daphne oleoides</i> Schreber	España: sierra de Mágina, Jaén.	D. Galicia & al.	DGH97215	AJ549492	P
<i>Diarthron (Stelleropsis) antoninae</i> (Pobed.) K. Tan	Irán: Firouzkuh-Semnan, Teherán.	Assadi & Mozaffarian	DGH81243	AJ549495	P
<i>Diarthron (Dendrostellera) lessertii</i> (Wikstr.) K. Tan	Irán: Hamadan, Ganjnameh.	Assadi & Mozaffarian	DGH81242	AJ549494	P
<i>Diarthron vesiculosum</i> (Fisch. & Mey. ex Kar. & Kir.) C.A. Meyer	Irán: Khorassan, Neyshabour.	Assadi & Mozaffarian	DGH81241	AJ549493	P
<i>Stellera chamaejasme</i> L.	R.B.G. Kew.	M.V. Chase	5530K	AJ549498	F
<i>Wikstroemia (Restella) albertii</i> (Regel) Domke	Tadjikistán: cordillera Hissar.	M.G. Pimenov & E.V. Kijuykov	E86737	AJ549497	P
<i>Wikstroemia canescens</i> Meisn.	Nepal: Janakpur, Ramechhap.	Bot. Expedition to Himalaya - 1985	E82170	AJ549496	P
<i>Gnidia carinata</i> Thunb.	Jard. Bot. Funchal, Madeira.	J.B. Funchal	DGH00283	AJ549499	P

### 7.3. Matriz de secuencias alineadas

Secuencias alineadas de la región de los ITS. Con una línea sobre las secuencias se ha señalado la región excluida de los análisis. Al final se añade la codificación de las inserciones/delecciones: 620 a 628 considerando que cada serie de *gaps* consecutivos es el resultado de un único evento de inserción/delección; 629 a 643 codificación binaria para los caracteres con *gaps* en alguna de las secuencias.

		ITS1				
		10	20	30	40	50
<i>T. passerina</i>	[1]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. salsa</i> A	[2]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. salsa</i> B	[3]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. aucheri</i>	[4]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. cilicica</i>	[5]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. mesopotamica</i>	[6]	TCGATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. gussonei</i>	[7]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>nivalis</i>	[8]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACTCGTGA	ACATGTTAGC	A-AACGTGTT
<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i>	[9]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACTCGTGA	ACATGTTAGC	A-AACGTGTT
<i>T. velutina</i> A	[10]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. velutina</i> B	[11]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>thomasi</i>	[12]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i>	[13]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>valentina</i>	[14]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i>	[15]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>angustifolia</i>	[16]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>argentea</i>	[17]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGTA	CAACCCGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>T. putorioides</i>	[18]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. sempervirens</i>	[19]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	[20]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>thesioides</i>	[21]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> A	[22]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>elliptica</i> B	[23]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. sanamunda</i> A	[24]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. sanamunda</i> B	[25]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. dioica</i> A	[26]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. dioica</i> B	[27]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. granatensis</i> A	[28]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. granatensis</i> B	[29]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. ruizii</i> A	[30]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACTCGTGA	ACATGTGAGT	A-AATGTGTC
<i>T. ruizii</i> B	[31]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACTCGTGA	ACATGTGAGT	A-AATGTGTC
<i>T. subrepens</i>	[32]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTC
<i>T. calycina</i>	[33]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTT
<i>T. lythroides</i>	[34]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. lanuginosa</i>	[35]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. hirsuta</i>	[36]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. virgata</i> subsp. <i>broussonetii</i> A	[37]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. virgata</i> subsp. <i>broussonetii</i> B	[38]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. antiatlantica</i>	[39]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. virescens</i>	[40]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGT	A-AATGTGTC
<i>T. microphylla</i>	[41]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. villosa</i>	[42]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. procumbens</i>	[43]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>dendrobryum</i>	[44]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	[45]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. broteriana</i> A	[46]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>T. broteriana</i> B	[47]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACTGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>T. argentata</i>	[48]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTC
<i>Da. cneorum</i>	[49]	TCGAATCCTG	CAAAGCAAAA	CAACTGTGA	ACATGTTTTC	A-AATGTGTT
<i>Da. gnidium</i>	[50]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>Da. oleoides</i>	[51]	TCGAGTCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCTGTGA	ACATGTTTGC	A-AATGTGTT
<i>Di. vesiculosum</i>	[52]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>Di. (=Dendrostellera) lessertii</i>	[53]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>Di. (=Stelleropsis) antoninae</i>	[54]	TCGAATCCTG	CATAGCAGAA	CAACTCGTGA	ACATGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>W. canescens</i>	[55]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACAAGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>W. (=Restella) albertii</i>	[56]	TCGAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACAAGTTAGC	A-AATGTGTT
<i>S. chamaejasme</i>	[57]	TCAAATCCTG	CAAAGCAGAA	CAACCCGTGA	ACATGTTACC	A-TATGTGTT
<i>G. carinata</i>	[58]	TCAAATCCTG	CATGGAAGAA	CAACCCGTGA	ATTTGTAAGC	ATAATGTGTC



191



	140	150	160	170	180	190	200	210
[1]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGAAACGT	TTTT-TCCCC	ATGC--ATCT	TAACACA-AG	ACTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[2]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGGAACGT	TTTT-TCCCC	ATGC--ATCT	TAACACA-AG	ACTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[3]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGGAACGT	TTTT-TCCCC	ATGC--ATCT	TAACACA-AG	ACTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[4]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGAAACGT	TTTTACCCCC	ATAC--ATCT	TAACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[5]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGAAACGT	TTTTACCCCC	ATAC--ATCT	TAACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[6]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGAAACGT	TTTC-TCCCC	ATGC--ATCT	TAACATG-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[7]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAC-A	AATGAAACGT	TTTT-TCCCC	ATAC--ATCT	TAACACA-AG	GTTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[8]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTT---CTC	ATGC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GAAAGGCGTG
[9]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTT---CTC	ATGC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GAAAGGCGTG
[10]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[11]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCC	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[12]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCC	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[13]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCC	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[14]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[15]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[16]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[17]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-GG	ATTATGTGGG	GTAATGTGTG
[18]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[19]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[20]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTT---CCC	ATGCACATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[21]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTT---CCC	ATGCACATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[22]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[23]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[24]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTT---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[25]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[26]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATAAAGCAT	TTTC---CTC	ATGC--ATCC	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[27]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATAAAGCAT	TTTC---CTC	ATGC--ATCC	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[28]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGYGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[29]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-GG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[30]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATAC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGCGGG	GTAATGCGTG
[31]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATAC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGCGGG	GTAATGCGTG
[32]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACAAAGTGT	TTTC---CCC	ATAC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[33]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTT---CCC	ATAC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[34]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[35]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[36]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGT--ATCT	-AACACA-AG	ATATTGTGGG	GTAATGCGTG
[37]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGTGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[38]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGTGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[39]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGTGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[40]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTT---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[41]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCAT	TTTT---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[42]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGC	TTTT---CCC	GTGC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[43]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGTGT	TTTC---CTC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGCGGG	GTAATGCGTC
[44]	GCGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGTGT	TTTC---CTC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGCGGG	GTAATGCGTC
[45]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CTC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGCGGG	GTAATGCGTC
[46]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CTC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATACGTG
[47]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AACGAAGCGT	TTTC---CTC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[48]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAGCGT	TTTC---CCC	ATGC--ATCT	-AACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[49]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAACGT	TTTC---CCC	ATGC-CATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGTG	GTAATGCGTG
[50]	GTGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGAAACGT	TTTC---CCC	ATGC--ATTT	-AACATA-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[51]	GTGCCAAGGA	ATTGTGATTA	AATGAAACGT	TTTT--TCCC	ATGC--ATCT	-AACATA-AG	ATTGTGTGCG	GTAATGCGTG
[52]	GTGTCAAGGA	ATTGTGAT-A	AATGTAACGT	TTGC---CCC	ATGC--ATCT	-AACATG-AG	ATTGTGTGGG	GTAATGCGTG
[53]	GCGTCAAGGA	ACTGTGAT-A	AATGTAACGT	TTGC---CCT	ATTC--ATCT	-TACACA-AG	ATTGTGTGGG	GTCATGCGTG
[54]	GCGCCAAGGA	ATTGTGAT-A	AGTGAACGT	TTGC---CCT	ATGC-CATC-	--ACA---AG	ATTGTGTGGG	GTCATGCGTG
[55]	GCGCCAAGGA	ATTGTTAT-G	AATGAAACGT	TTGC---CCT	ATGC-CATCT	-AACACAAAG	ATTGTGTGGG	GTCATGCGTG
[56]	GTGCCAAGGA	ATTGTTAT-A	AGTGAACGT	TTGT---CCT	GTGC-CATCT	-AACAC--AG	ATTGTATAGG	GTAATGCGTG
[57]	GCGCCAAGGA	ATT-----	-ATGTAACGT	TTGC---CTC	ATGC--ATCT	-GACACA-AG	ATTGTGTAGG	GTCATGCGTG
[58]	GCGCCAAGGA	ATTTTGTAT-C	AGTTATACGT	TTGC---CCG	GGGC--ACCC	AGAAAT--GG	AATGCTTGGG	GTCGGGCGTC



193



[illegible]



195



[illegible]



	540	550	560	570	580	590	600	610
[1]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGG-	CC-ACCACTT	GAAGA---TA
[2]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CC-ACCACTT	GAAGA---TA
[3]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CCAAAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CC-TTTGGAT	GAAGA---TA
[4]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---TA
[5]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---TA
[6]	CCTCGTTAAG	TCATTGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---TA
[7]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	ACTAGAGTTG	GTTGCTTCTC	TACTTCAGA-	CT-TTCGGAT	GAAGA---TA
[8]	CTTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-ATAGATTG	TTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTTGAT	GAAGA---CA
[9]	CTTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-ATAGATTG	TTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTTGAT	GAAGA---CA
[10]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[11]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[12]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[13]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[14]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[15]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[16]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[17]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCG	-CTAGAGTTG	GTTCCCTTTG	TGCTTTTAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[18]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TGCTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[19]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TGCTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[20]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-ATAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CG-TTTGGAC	GAAGA---CA
[21]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-ATAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[22]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACAACA	-GTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[23]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACAACA	-GTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---TA
[24]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-GTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[25]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACAACA	-GTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[26]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTCGAAC	GAAGA---CA
[27]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTCGAAC	GAAGA---CA
[28]	CCTCGTTAAG	TCATTGTGTG	CAGCACAACA	-GTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[29]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACAACA	-GTAAAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[30]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCA	-CTAGATTG	GTTCCCTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[31]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGTACATCA	-CTAGATTG	GTTCCCTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[32]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGATTG	GTTCCCTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[33]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-ATAGATTG	GTTCCCTTCTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[34]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGACTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[35]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGACTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGAAT	GAAGA---CA
[36]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CAAGACTTG	GTTTCTTTTA	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GGGGA---CA
[37]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[38]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[39]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAT	GAAGA---CA
[40]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAACACATCA	-CTAGAGTTG	GCTGCTTTTA	TACTTCAAA-	CT-TCTGGAT	GAAGA---AA
[41]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[42]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAACACATCA	-CTACACTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TCTGGAC	GAAGA---CA
[43]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---TA
[44]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[45]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[46]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTATAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[47]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTATAGTTG	GTTGATTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGAC	GAAGA---CA
[48]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-CTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTCAGA-	CT-TTTGGTC	GAAGA---TA
[49]	CTTCGTTAAG	TCATCGTGTA	TAGCATGTCA	-TTGGTGTG	GTTGCATTTG	TACTTCAAA-	CC-TTTGGAT	GAAGATAATA
[50]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTA	TAGCATGTCA	-TTAGCGTTG	GTTGCATTTG	TACTTCAAA-	CT-TTTGGAT	GAGGATAATA
[51]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTA	TAGCATGTCA	-TTAGAGTTG	GTTGCATTTG	TACTTCGAA-	CC-TTTGGAT	GAAGAAGACA
[52]	CCTCGTTATG	TCATCGTGTG	CAGCATATCA	-TTAGAGTTG	GTTGCCTTTG	TACTTTGAT-	TC-TTTATAC	AAAGA---CA
[53]	CCTCGTTATG	TCATCGTGTG	CAGCACATCA	-TTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTTGTT-	CC-TTTATAC	AAGGT---CA
[54]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCATGTCA	-TTAGAGTTG	GTTGCTTTTG	TACTTTGAT-	CC-TTCATTC	AAAGA---TA
[55]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCATGTCA	-TTAGAGTTG	GTTGCCTTTG	TACTTTGAT-	CC-TTCATTT	AGAGA---ATA
[56]	CCTCGTTAAG	TCATCGTGTG	CAGCATGTCA	-TTAGAGTTG	GTTGCCTTTG	TATTTTGAT-	CC-TTAATTC	GGAGA---TA
[57]	CCTCGTTATG	TCATCGTGTG	TAGTACATCA	-TTAGAGTTG	GTTACCTTTG	TATTTTGAT-	CT-TTCATAC	AAAGA---CA
[58]	CCTCGTTAAC	ACACCGTGTG	CATCATCTCA	-TTACAATGG	GTGACTTTTG	CACCCCAATG	CTGTCTAGA-	-AAGA---CG



	619	628	643
[1]	GCGCGCATC	010101100	011001100110000
[2]	GTGCGCATC	010101100	011001100110000
[3]	GCGCGCATC	010101100	011001100110000
[4]	GCACGCATC	110101100	111001100110000
[5]	GCACGCATC	110101100	111001100110000
[6]	GTGCGCATT	010101100	011001100110000
[7]	GTGCGCATC	010101100	011001100110000
[8]	GCGCGCATC	000001100	000000100110000
[9]	GCGCGCATC	000001100	000000100110000
[10]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[11]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[12]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[13]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[14]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[15]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[16]	GTGCGCATT	000001100	000000100110000
[17]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[18]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[19]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[20]	GTGCGCATC	001001100	000110100110000
[21]	GTGCGCATC	001001100	000110100110000
[22]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[23]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[24]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[25]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[26]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[27]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[28]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[29]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[30]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[31]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[32]	GTGTGCATC	000001100	000000100110000
[33]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[34]	GTGCGCATT	000001100	000000100110000
[35]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[36]	ATGCGCATC	000001100	000000100110000
[37]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[38]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[39]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[40]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[41]	CTGCGCATC	000001100	000000100110000
[42]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[43]	GTGCGCATT	000001100	000000100110000
[44]	GTGCGCATT	000001100	000000100110000
[45]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[46]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[47]	GTGCGCATC	000001100	000000100110000
[48]	GTGCGCATT	000001100	000000100110000
[49]	TTACGCATT	002010112	000010111011111
[50]	GTACGCATT	000000112	000000100011111
[51]	GTACGCATT	0?0000112	001000100011111
[52]	ATGCACATC	000001000	000000100100000
[53]	GTGCGCATC	000001000	000000100100000
[54]	ATGCACATC	002011100	000010011110000
[55]	GTGCACATC	002001101	000010100110001
[56]	GTGCACATC	002001100	000010000110000
[57]	ATGCACATT	000001000	000000100100000
[58]	TTGCACATC		

## 7.4. Divergencia entre las secuencias analizadas

A. Mitad inferior izquierda de la tabla: valores de divergencia calculados como distancias observadas (distancia  $p$ ). Mitad superior derecha: valores de divergencia estimados con el modelo de sustitución de Jukes-Cantor (JC).

		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]
Da. cneorum	[1]		0,051	0,056	0,175	0,172	0,157	0,152	0,146	0,137
Da. gnidium	[2]	0,036		0,058	0,178	0,175	0,160	0,149	0,143	0,129
Da. oleoides	[3]	0,040	0,041		0,159	0,157	0,148	0,136	0,131	0,128
T. passerina	[4]	0,115	0,117	0,106		0,012	0,039	0,049	0,046	0,059
T. salsa A	[5]	0,113	0,115	0,104	0,009		0,031	0,054	0,051	0,056
T. salsa B	[6]	0,104	0,106	0,099	0,028	0,022		0,041	0,039	0,048
T. aucheri	[7]	0,101	0,099	0,092	0,035	0,038	0,029		0,007	0,048
T. cilicica	[8]	0,098	0,096	0,088	0,033	0,036	0,028	0,005		0,051
T. mesopotamica	[9]	0,092	0,087	0,087	0,042	0,040	0,035	0,035	0,036	
T. gussonei	[10]	0,103	0,101	0,094	0,040	0,038	0,036	0,033	0,035	0,029
T. tinctoria subsp. tinctoria	[11]	0,099	0,104	0,096	0,070	0,071	0,064	0,058	0,058	0,066
T. tartonraira subsp. tartonraira	[12]	0,106	0,108	0,099	0,080	0,078	0,073	0,073	0,070	0,071
T. velutina A	[13]	0,104	0,106	0,097	0,078	0,077	0,071	0,071	0,068	0,070
T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	[14]	0,108	0,110	0,101	0,082	0,080	0,075	0,075	0,071	0,073
T. tartonraira subsp. angustifolia	[15]	0,103	0,105	0,096	0,080	0,078	0,073	0,073	0,070	0,068
T. tartonraira subsp. argentea	[16]	0,103	0,105	0,096	0,077	0,075	0,070	0,070	0,066	0,068
T. putorioides	[17]	0,090	0,092	0,084	0,064	0,063	0,057	0,058	0,054	0,052
T. sempervirens	[18]	0,090	0,092	0,084	0,064	0,061	0,056	0,051	0,047	0,056
T. pubescens subsp. pubescens	[19]	0,092	0,096	0,082	0,054	0,052	0,047	0,049	0,045	0,051
T. pubescens subsp. thesioides	[20]	0,092	0,094	0,082	0,054	0,052	0,045	0,047	0,044	0,049
T. sanamunda A	[21]	0,089	0,087	0,075	0,054	0,052	0,047	0,047	0,044	0,045
T. dioica A	[22]	0,106	0,106	0,097	0,066	0,064	0,061	0,064	0,061	0,059
T. dioica B	[23]	0,104	0,104	0,096	0,064	0,063	0,059	0,063	0,059	0,058
T. granatensis B	[24]	0,090	0,092	0,087	0,056	0,054	0,045	0,049	0,045	0,047
T. ruizii B	[25]	0,108	0,110	0,104	0,078	0,077	0,071	0,068	0,068	0,063
T. subrepens	[26]	0,108	0,106	0,101	0,073	0,071	0,066	0,063	0,063	0,057
T. calycina	[27]	0,104	0,103	0,094	0,070	0,068	0,063	0,056	0,056	0,054
T. lythroides	[28]	0,094	0,089	0,084	0,071	0,070	0,061	0,058	0,054	0,052
T. lanuginosa	[29]	0,099	0,097	0,089	0,071	0,070	0,066	0,059	0,056	0,058
T. hirsuta	[30]	0,103	0,099	0,097	0,073	0,071	0,064	0,059	0,056	0,058
T. virgata subsp. brousonetii A	[31]	0,092	0,087	0,082	0,056	0,054	0,049	0,045	0,042	0,044
T. virgata subsp. brousonetii B	[32]	0,096	0,091	0,085	0,059	0,057	0,052	0,049	0,045	0,047
T. antiatlantica	[33]	0,092	0,091	0,082	0,058	0,056	0,052	0,049	0,045	0,047
T. virescens	[34]	0,096	0,098	0,087	0,061	0,059	0,057	0,051	0,051	0,056
T. microphylla	[35]	0,097	0,097	0,089	0,061	0,059	0,054	0,047	0,044	0,056
T. villosa	[36]	0,103	0,101	0,089	0,070	0,068	0,064	0,063	0,059	0,064
T. procumbens	[37]	0,103	0,104	0,099	0,070	0,068	0,063	0,063	0,059	0,058
T. coridifolia subsp. dendrobryum	[38]	0,101	0,103	0,094	0,070	0,068	0,063	0,063	0,059	0,058
T. coridifolia subsp. coridifolia	[39]	0,101	0,103	0,094	0,066	0,064	0,059	0,056	0,052	0,058
T. broteriana A	[40]	0,103	0,104	0,096	0,073	0,071	0,064	0,063	0,059	0,061
T. broteriana B	[41]	0,099	0,104	0,096	0,075	0,073	0,066	0,065	0,061	0,063
T. argentata	[42]	0,104	0,103	0,097	0,059	0,057	0,057	0,057	0,054	0,052
Di. vesiculosum	[43]	0,105	0,106	0,096	0,112	0,110	0,110	0,112	0,108	0,103
S. chamaejasme	[44]	0,127	0,131	0,117	0,127	0,125	0,129	0,127	0,124	0,125
Di. (=Dendrostellera) lessertii	[45]	0,124	0,116	0,102	0,105	0,106	0,106	0,103	0,100	0,107
W. canescens	[46]	0,111	0,111	0,101	0,088	0,089	0,099	0,101	0,097	0,101
W. (=Restella) albertii	[47]	0,110	0,110	0,101	0,098	0,098	0,103	0,105	0,101	0,103
Di. (=Stelleropsis) antoninae	[48]	0,107	0,113	0,102	0,100	0,100	0,107	0,107	0,104	0,105
G. carinata	[49]	0,224	0,217	0,222	0,214	0,213	0,214	0,219	0,216	0,211



	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	[16]	[17]	[18]	[19]	[20]	[21]	[22]	[23]
[11]	0,155	0,149	0,160	0,157	0,163	0,155	0,155	0,134	0,134	0,137	0,137	0,132	0,160	0,157
[2]	0,152	0,157	0,163	0,161	0,166	0,158	0,158	0,137	0,137	0,143	0,141	0,129	0,160	0,157
[3]	0,140	0,143	0,149	0,146	0,152	0,143	0,143	0,123	0,123	0,120	0,121	0,109	0,146	0,143
[4]	0,056	0,101	0,118	0,115	0,120	0,118	0,112	0,093	0,093	0,077	0,077	0,077	0,096	0,093
[5]	0,054	0,104	0,115	0,112	0,118	0,115	0,109	0,091	0,088	0,075	0,075	0,075	0,093	0,090
[6]	0,051	0,093	0,107	0,104	0,109	0,107	0,101	0,083	0,080	0,067	0,064	0,067	0,088	0,085
[7]	0,046	0,083	0,107	0,104	0,110	0,107	0,101	0,083	0,072	0,069	0,067	0,067	0,093	0,090
[8]	0,048	0,083	0,101	0,099	0,104	0,101	0,096	0,077	0,067	0,064	0,062	0,062	0,088	0,085
[9]	0,041	0,096	0,104	0,101	0,107	0,099	0,099	0,075	0,080	0,072	0,070	0,064	0,085	0,083
[10]		0,093	0,102	0,099	0,104	0,102	0,096	0,072	0,077	0,070	0,067	0,062	0,083	0,080
[11]	0,065		0,088	0,085	0,090	0,088	0,082	0,069	0,069	0,056	0,054	0,056	0,080	0,077
[12]	0,070	0,061		0,002	0,007	0,005	0,005	0,041	0,041	0,054	0,051	0,062	0,069	0,067
[13]	0,068	0,059	0,002		0,005	0,002	0,002	0,039	0,039	0,051	0,049	0,059	0,072	0,069
[14]	0,072	0,063	0,005	0,003		0,007	0,007	0,044	0,044	0,057	0,054	0,064	0,077	0,075
[15]	0,070	0,061	0,003	0,002	0,005		0,005	0,041	0,041	0,054	0,052	0,062	0,075	0,072
[16]	0,066	0,057	0,003	0,002	0,005	0,003		0,041	0,041	0,054	0,052	0,056	0,075	0,072
[17]	0,051	0,049	0,030	0,028	0,031	0,030	0,030		0,014	0,041	0,039	0,049	0,062	0,059
[18]	0,054	0,049	0,030	0,028	0,031	0,030	0,030	0,010		0,041	0,039	0,049	0,062	0,059
[19]	0,049	0,040	0,038	0,037	0,040	0,038	0,038	0,030	0,030		0,002	0,019	0,044	0,041
[20]	0,047	0,038	0,037	0,035	0,038	0,037	0,037	0,028	0,028	0,002		0,017	0,039	0,036
[21]	0,044	0,040	0,043	0,042	0,045	0,043	0,040	0,035	0,035	0,014	0,012		0,044	0,041
[22]	0,057	0,056	0,049	0,050	0,054	0,052	0,052	0,043	0,043	0,031	0,028	0,031		0,002
[23]	0,056	0,054	0,047	0,049	0,052	0,050	0,050	0,042	0,042	0,030	0,026	0,030	0,002	
[24]	0,049	0,045	0,035	0,033	0,037	0,035	0,035	0,026	0,026	0,016	0,012	0,019	0,028	0,026
[25]	0,068	0,059	0,057	0,056	0,059	0,057	0,054	0,052	0,052	0,043	0,042	0,045	0,059	0,059
[26]	0,063	0,059	0,061	0,059	0,063	0,061	0,057	0,050	0,050	0,047	0,045	0,049	0,057	0,056
[27]	0,054	0,057	0,059	0,057	0,061	0,059	0,059	0,050	0,047	0,038	0,037	0,042	0,054	0,052
[28]	0,058	0,054	0,057	0,056	0,059	0,054	0,054	0,045	0,042	0,040	0,038	0,035	0,049	0,047
[29]	0,056	0,052	0,056	0,054	0,057	0,056	0,052	0,043	0,040	0,042	0,040	0,037	0,047	0,045
[30]	0,059	0,061	0,057	0,056	0,059	0,057	0,054	0,045	0,045	0,047	0,045	0,042	0,056	0,054
[31]	0,049	0,043	0,042	0,040	0,043	0,042	0,038	0,026	0,026	0,024	0,023	0,023	0,037	0,035
[32]	0,052	0,047	0,045	0,043	0,047	0,045	0,042	0,030	0,030	0,028	0,026	0,026	0,040	0,038
[33]	0,045	0,047	0,045	0,043	0,047	0,045	0,042	0,030	0,030	0,028	0,026	0,023	0,037	0,035
[34]	0,051	0,056	0,064	0,063	0,066	0,064	0,061	0,052	0,049	0,043	0,042	0,038	0,056	0,054
[35]	0,051	0,047	0,049	0,047	0,047	0,049	0,049	0,037	0,033	0,031	0,030	0,033	0,043	0,042
[36]	0,063	0,056	0,063	0,061	0,064	0,063	0,063	0,050	0,047	0,038	0,037	0,038	0,052	0,050
[37]	0,059	0,063	0,057	0,056	0,059	0,054	0,057	0,045	0,045	0,037	0,035	0,042	0,050	0,049
[38]	0,059	0,057	0,052	0,050	0,054	0,049	0,052	0,040	0,040	0,031	0,030	0,037	0,045	0,043
[39]	0,056	0,050	0,049	0,047	0,050	0,049	0,049	0,037	0,037	0,031	0,030	0,037	0,042	0,040
[40]	0,052	0,057	0,056	0,054	0,057	0,056	0,056	0,040	0,040	0,038	0,037	0,040	0,043	0,042
[41]	0,058	0,052	0,054	0,052	0,056	0,054	0,054	0,042	0,042	0,037	0,035	0,038	0,042	0,040
[42]	0,056	0,061	0,059	0,057	0,061	0,056	0,059	0,047	0,047	0,038	0,037	0,040	0,050	0,049
[43]	0,106	0,101	0,103	0,101	0,101	0,103	0,103	0,091	0,094	0,082	0,082	0,089	0,101	0,099
[44]	0,122	0,118	0,115	0,113	0,113	0,111	0,115	0,111	0,111	0,104	0,102	0,109	0,111	0,109
[45]	0,105	0,108	0,105	0,103	0,106	0,105	0,105	0,096	0,096	0,084	0,084	0,089	0,101	0,099
[46]	0,096	0,102	0,101	0,099	0,103	0,101	0,097	0,092	0,092	0,080	0,080	0,083	0,092	0,090
[47]	0,098	0,103	0,098	0,096	0,099	0,098	0,098	0,089	0,092	0,080	0,080	0,087	0,098	0,096
[48]	0,104	0,102	0,100	0,100	0,103	0,102	0,102	0,093	0,093	0,084	0,084	0,091	0,095	0,093
[49]	0,218	0,206	0,207	0,209	0,211	0,211	0,209	0,204	0,204	0,192	0,190	0,195	0,200	0,199





	{24}	{25}	{26}	{27}	{28}	{29}	{30}	{31}	{32}	{33}	{34}	{35}	{36}	{37}
{1}	0,134	0,163	0,163	0,157	0,140	0,148	0,154	0,137	0,143	0,137	0,143	0,146	0,154	0,154
{2}	0,137	0,166	0,160	0,154	0,132	0,146	0,149	0,129	0,134	0,134	0,146	0,146	0,152	0,157
{3}	0,129	0,157	0,151	0,140	0,123	0,131	0,146	0,120	0,126	0,120	0,129	0,131	0,132	0,149
{4}	0,080	0,115	0,107	0,101	0,104	0,104	0,107	0,080	0,085	0,083	0,088	0,088	0,101	0,101
{5}	0,077	0,112	0,104	0,099	0,101	0,101	0,104	0,077	0,083	0,080	0,085	0,085	0,098	0,099
{6}	0,064	0,104	0,096	0,090	0,088	0,096	0,093	0,069	0,075	0,075	0,082	0,077	0,093	0,091
{7}	0,070	0,099	0,091	0,080	0,083	0,085	0,085	0,064	0,070	0,070	0,072	0,067	0,090	0,091
{8}	0,064	0,099	0,091	0,080	0,077	0,080	0,080	0,059	0,064	0,064	0,072	0,062	0,085	0,085
{9}	0,067	0,091	0,083	0,077	0,075	0,083	0,083	0,062	0,067	0,067	0,080	0,080	0,093	0,083
{10}	0,070	0,099	0,091	0,077	0,083	0,080	0,085	0,070	0,075	0,064	0,072	0,072	0,091	0,085
{11}	0,064	0,085	0,085	0,082	0,077	0,075	0,088	0,062	0,067	0,067	0,080	0,067	0,080	0,090
{12}	0,049	0,082	0,088	0,085	0,082	0,080	0,082	0,059	0,064	0,064	0,093	0,069	0,090	0,082
{13}	0,046	0,080	0,085	0,082	0,080	0,077	0,080	0,056	0,062	0,062	0,090	0,067	0,088	0,080
{14}	0,051	0,085	0,090	0,088	0,085	0,082	0,085	0,062	0,067	0,067	0,096	0,067	0,093	0,085
{15}	0,049	0,082	0,088	0,085	0,077	0,080	0,082	0,059	0,064	0,064	0,093	0,069	0,090	0,077
{16}	0,049	0,077	0,082	0,085	0,077	0,075	0,077	0,054	0,059	0,059	0,088	0,069	0,090	0,082
{17}	0,036	0,075	0,072	0,072	0,064	0,062	0,064	0,036	0,041	0,041	0,075	0,051	0,072	0,064
{18}	0,036	0,075	0,072	0,067	0,059	0,056	0,064	0,036	0,041	0,041	0,069	0,046	0,067	0,064
{19}	0,022	0,062	0,067	0,054	0,056	0,059	0,067	0,034	0,039	0,039	0,062	0,044	0,054	0,051
{20}	0,017	0,059	0,064	0,051	0,054	0,056	0,064	0,031	0,036	0,036	0,059	0,041	0,051	0,049
{21}	0,026	0,064	0,069	0,059	0,049	0,051	0,059	0,031	0,036	0,031	0,054	0,046	0,054	0,059
{22}	0,039	0,085	0,082	0,077	0,069	0,067	0,080	0,051	0,056	0,051	0,080	0,062	0,075	0,072
{23}	0,036	0,085	0,080	0,075	0,067	0,064	0,077	0,049	0,054	0,049	0,077	0,059	0,072	0,069
{24}		0,062	0,062	0,057	0,051	0,054	0,062	0,029	0,034	0,034	0,059	0,039	0,056	0,046
{25}	0,044		0,036	0,054	0,072	0,075	0,085	0,054	0,059	0,064	0,080	0,082	0,090	0,075
{26}	0,044	0,026		0,051	0,075	0,077	0,085	0,049	0,054	0,059	0,075	0,080	0,090	0,080
{27}	0,040	0,038	0,037		0,072	0,075	0,082	0,051	0,056	0,056	0,072	0,069	0,077	0,085
{28}	0,037	0,050	0,052	0,050		0,012	0,054	0,041	0,046	0,036	0,059	0,056	0,067	0,064
{29}	0,038	0,052	0,054	0,052	0,009		0,056	0,044	0,049	0,039	0,062	0,054	0,069	0,072
{30}	0,044	0,059	0,059	0,057	0,038	0,040		0,051	0,056	0,051	0,064	0,064	0,082	0,080
{31}	0,021	0,038	0,035	0,037	0,030	0,031	0,037		0,005	0,010	0,051	0,039	0,054	0,051
{32}	0,024	0,042	0,038	0,040	0,033	0,035	0,040	0,003		0,014	0,056	0,044	0,059	0,056
{33}	0,024	0,045	0,042	0,040	0,026	0,028	0,037	0,007	0,010		0,051	0,044	0,059	0,056
{34}	0,042	0,056	0,052	0,050	0,042	0,043	0,045	0,037	0,040	0,037		0,051	0,067	0,082
{35}	0,028	0,057	0,056	0,049	0,040	0,038	0,045	0,028	0,031	0,031	0,037		0,064	0,067
{36}	0,040	0,063	0,063	0,054	0,047	0,049	0,057	0,038	0,042	0,042	0,047	0,045		0,077
{37}	0,033	0,052	0,056	0,059	0,045	0,050	0,056	0,037	0,040	0,040	0,057	0,047	0,054	
{38}	0,031	0,047	0,050	0,056	0,040	0,045	0,050	0,031	0,035	0,035	0,054	0,045	0,049	0,005
{39}	0,028	0,047	0,050	0,052	0,037	0,038	0,043	0,031	0,035	0,035	0,047	0,038	0,045	0,012
{40}	0,033	0,057	0,056	0,056	0,040	0,042	0,050	0,038	0,042	0,035	0,047	0,045	0,050	0,037
{41}	0,031	0,052	0,056	0,050	0,042	0,043	0,052	0,037	0,040	0,033	0,049	0,043	0,052	0,038
{42}	0,035	0,057	0,057	0,063	0,047	0,052	0,054	0,038	0,042	0,042	0,056	0,043	0,050	0,035
{43}	0,087	0,108	0,110	0,108	0,104	0,104	0,104	0,092	0,096	0,096	0,106	0,097	0,094	0,094
{44}	0,104	0,127	0,129	0,127	0,118	0,122	0,127	0,109	0,113	0,113	0,123	0,115	0,115	0,111
{45}	0,089	0,112	0,113	0,105	0,101	0,101	0,112	0,092	0,096	0,096	0,108	0,099	0,098	0,099
{46}	0,078	0,106	0,104	0,106	0,096	0,096	0,101	0,083	0,087	0,085	0,096	0,090	0,096	0,090
{47}	0,082	0,113	0,112	0,106	0,103	0,103	0,101	0,091	0,094	0,094	0,099	0,091	0,092	0,098
{48}	0,082	0,105	0,107	0,105	0,103	0,103	0,109	0,091	0,095	0,095	0,103	0,093	0,098	0,098
{49}	0,188	0,204	0,204	0,206	0,199	0,201	0,211	0,197	0,201	0,201	0,204	0,202	0,197	0,202



	[38]	[39]	[40]	[41]	[42]	[43]	[44]	[45]	[46]	[47]	[48]	[49]
[1]	0,151	0,151	0,154	0,149	0,157	0,158	0,198	0,191	0,168	0,166	0,161	0,392
[2]	0,155	0,155	0,157	0,157	0,155	0,161	0,204	0,176	0,169	0,167	0,172	0,377
[3]	0,140	0,140	0,143	0,143	0,146	0,143	0,179	0,153	0,152	0,152	0,154	0,389
[4]	0,101	0,096	0,107	0,110	0,085	0,169	0,197	0,158	0,131	0,146	0,150	0,370
[5]	0,099	0,093	0,104	0,107	0,083	0,166	0,194	0,161	0,131	0,146	0,150	0,366
[6]	0,091	0,085	0,093	0,096	0,082	0,166	0,201	0,161	0,148	0,154	0,162	0,370
[7]	0,091	0,080	0,091	0,093	0,083	0,170	0,198	0,155	0,151	0,158	0,162	0,382
[8]	0,085	0,075	0,085	0,088	0,077	0,164	0,191	0,149	0,145	0,152	0,156	0,374
[9]	0,083	0,083	0,088	0,091	0,075	0,155	0,194	0,161	0,151	0,155	0,159	0,362
[10]	0,086	0,080	0,075	0,083	0,080	0,161	0,189	0,159	0,143	0,146	0,157	0,379
[11]	0,082	0,072	0,082	0,075	0,088	0,152	0,182	0,164	0,154	0,155	0,153	0,352
[12]	0,075	0,069	0,080	0,077	0,085	0,155	0,176	0,158	0,151	0,146	0,150	0,355
[13]	0,072	0,067	0,077	0,075	0,082	0,152	0,173	0,155	0,149	0,143	0,150	0,359
[14]	0,077	0,072	0,082	0,080	0,088	0,152	0,173	0,161	0,154	0,149	0,156	0,363
[15]	0,069	0,069	0,080	0,077	0,080	0,155	0,170	0,158	0,151	0,146	0,153	0,363
[16]	0,075	0,069	0,080	0,077	0,085	0,155	0,176	0,158	0,146	0,146	0,153	0,360
[17]	0,056	0,051	0,056	0,059	0,067	0,135	0,170	0,143	0,137	0,132	0,139	0,348
[18]	0,056	0,051	0,056	0,059	0,067	0,140	0,170	0,143	0,137	0,137	0,139	0,348
[19]	0,044	0,044	0,054	0,051	0,054	0,121	0,158	0,124	0,117	0,118	0,124	0,321
[20]	0,041	0,041	0,051	0,049	0,051	0,121	0,155	0,124	0,117	0,118	0,124	0,318
[21]	0,051	0,051	0,056	0,054	0,056	0,132	0,167	0,132	0,123	0,129	0,136	0,329
[22]	0,064	0,059	0,062	0,059	0,072	0,152	0,170	0,152	0,137	0,146	0,142	0,340
[23]	0,062	0,056	0,059	0,056	0,069	0,149	0,167	0,149	0,134	0,143	0,139	0,337
[24]	0,044	0,039	0,046	0,044	0,049	0,129	0,158	0,132	0,115	0,121	0,122	0,315
[25]	0,067	0,067	0,082	0,075	0,082	0,163	0,197	0,170	0,160	0,172	0,159	0,348
[26]	0,072	0,072	0,080	0,080	0,082	0,166	0,200	0,173	0,157	0,170	0,162	0,348
[27]	0,080	0,075	0,080	0,072	0,090	0,163	0,197	0,158	0,160	0,161	0,159	0,351
[28]	0,056	0,051	0,056	0,059	0,067	0,158	0,182	0,152	0,143	0,155	0,156	0,337
[29]	0,064	0,054	0,059	0,062	0,075	0,157	0,188	0,152	0,142	0,155	0,156	0,341
[30]	0,072	0,062	0,072	0,075	0,077	0,158	0,197	0,170	0,151	0,152	0,165	0,364
[31]	0,044	0,044	0,054	0,051	0,054	0,137	0,167	0,138	0,123	0,135	0,136	0,333
[32]	0,049	0,049	0,059	0,056	0,059	0,143	0,173	0,143	0,128	0,140	0,142	0,341
[33]	0,049	0,049	0,049	0,046	0,059	0,143	0,173	0,143	0,126	0,140	0,142	0,340
[34]	0,077	0,067	0,067	0,069	0,080	0,160	0,191	0,164	0,142	0,149	0,156	0,348
[35]	0,064	0,054	0,064	0,062	0,062	0,146	0,175	0,149	0,134	0,135	0,139	0,344
[36]	0,069	0,064	0,072	0,075	0,072	0,140	0,176	0,146	0,143	0,137	0,147	0,333
[37]	0,007	0,017	0,051	0,054	0,049	0,140	0,170	0,149	0,134	0,146	0,147	0,344
[38]		0,010	0,044	0,046	0,049	0,132	0,160	0,141	0,131	0,143	0,144	0,333
[39]	0,007		0,034	0,036	0,049	0,132	0,160	0,141	0,126	0,137	0,139	0,325
[40]	0,031	0,024		0,022	0,062	0,137	0,166	0,146	0,143	0,149	0,150	0,340
[41]	0,033	0,026	0,016		0,067	0,140	0,170	0,149	0,145	0,152	0,145	0,351
[42]	0,035	0,035	0,043	0,047		0,155	0,179	0,155	0,134	0,140	0,136	0,336
[43]	0,089	0,089	0,092	0,094	0,103		0,081	0,077	0,104	0,096	0,089	0,322
[44]	0,106	0,106	0,109	0,111	0,116	0,056		0,101	0,125	0,132	0,121	0,348
[45]	0,094	0,094	0,098	0,099	0,103	0,054	0,069		0,118	0,129	0,108	0,342
[46]	0,089	0,085	0,096	0,097	0,090	0,071	0,085	0,080		0,054	0,062	0,303
[47]	0,096	0,092	0,099	0,101	0,094	0,066	0,088	0,087	0,038		0,072	0,328
[48]	0,096	0,093	0,100	0,096	0,091	0,061	0,082	0,074	0,044	0,051		0,313
[49]	0,197	0,193	0,200	0,206	0,199	0,192	0,203	0,201	0,183	0,195	0,187	



B. Mitad inferior izquierda: valores de divergencia estimados mediante máxima verosimilitud con el modelo de sustitución general-reversible y una tasa evolutiva dependiente de la posición (REV+Γ). Mitad superior derecha: valores de divergencia estimados aplicando la transformación LogDet.

		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]
<i>Da. cheurum</i>	[1]		0,052	0,056	0,172	0,168	0,154	0,152	0,145	0,137
<i>Da. gnidium</i>	[2]	0,054		0,060	0,176	0,172	0,158	0,150	0,142	0,129
<i>Da. oleoides</i>	[3]	0,060	0,063		0,161	0,157	0,149	0,141	0,133	0,132
<i>T. passerina</i>	[4]	0,221	0,223	0,198		0,012	0,039	0,048	0,046	0,058
<i>T. salsa A</i>	[5]	0,218	0,220	0,194	0,012		0,031	0,053	0,051	0,055
<i>T. salsa B</i>	[6]	0,193	0,195	0,180	0,041	0,033		0,041	0,039	0,048
<i>T. aucheri</i>	[7]	0,185	0,179	0,163	0,052	0,058	0,043		0,007	0,049
<i>T. cilicica</i>	[8]	0,177	0,172	0,157	0,049	0,055	0,040	0,007		0,051
<i>T. mesopotamica</i>	[9]	0,167	0,155	0,153	0,063	0,060	0,051	0,051	0,054	
<i>T. gussonei</i>	[10]	0,191	0,185	0,169	0,061	0,058	0,054	0,049	0,051	0,043
<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i>	[11]	0,183	0,193	0,173	0,115	0,119	0,104	0,092	0,092	0,107
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i>	[12]	0,197	0,199	0,179	0,135	0,132	0,120	0,120	0,114	0,116
<i>T. velutina A</i>	[13]	0,193	0,195	0,176	0,132	0,129	0,117	0,117	0,111	0,113
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i>	[14]	0,202	0,203	0,184	0,139	0,136	0,124	0,124	0,118	0,119
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>angustifolia</i>	[15]	0,190	0,192	0,172	0,135	0,132	0,120	0,120	0,114	0,110
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>argentea</i>	[16]	0,190	0,192	0,172	0,128	0,126	0,114	0,114	0,108	0,110
<i>T. putorioides</i>	[17]	0,163	0,165	0,146	0,104	0,101	0,091	0,091	0,085	0,081
<i>T. sempervirens</i>	[18]	0,163	0,165	0,147	0,105	0,099	0,088	0,078	0,072	0,087
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	[19]	0,166	0,171	0,143	0,086	0,084	0,073	0,076	0,070	0,078
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>thesioides</i>	[20]	0,164	0,167	0,142	0,086	0,083	0,070	0,073	0,067	0,075
<i>T. sanamunda A</i>	[21]	0,156	0,152	0,127	0,086	0,084	0,073	0,073	0,068	0,070
<i>T. dioica A</i>	[22]	0,198	0,195	0,176	0,108	0,105	0,097	0,104	0,098	0,094
<i>T. dioica B</i>	[23]	0,194	0,191	0,172	0,104	0,102	0,094	0,100	0,094	0,090
<i>T. granatensis B</i>	[24]	0,163	0,165	0,153	0,089	0,086	0,070	0,076	0,070	0,073
<i>T. ruizii B</i>	[25]	0,206	0,208	0,195	0,134	0,131	0,119	0,112	0,112	0,102
<i>T. subrepens</i>	[26]	0,206	0,200	0,188	0,124	0,121	0,110	0,103	0,103	0,093
<i>T. calycina</i>	[27]	0,198	0,193	0,173	0,117	0,114	0,102	0,090	0,090	0,086
<i>T. lythroides</i>	[28]	0,170	0,157	0,146	0,117	0,114	0,096	0,091	0,085	0,081
<i>T. lanuginosa</i>	[29]	0,181	0,175	0,157	0,116	0,114	0,106	0,094	0,088	0,090
<i>T. hirsuta</i>	[30]	0,192	0,183	0,180	0,122	0,120	0,105	0,096	0,090	0,092
<i>T. virgata</i> subsp. <i>broussonetii A</i>	[31]	0,165	0,153	0,142	0,088	0,086	0,075	0,070	0,064	0,066
<i>T. virgata</i> subsp. <i>broussonetii B</i>	[32]	0,174	0,162	0,150	0,095	0,092	0,082	0,076	0,070	0,073
<i>T. antiatlantica</i>	[33]	0,165	0,160	0,142	0,091	0,089	0,081	0,076	0,070	0,072
<i>T. virescens</i>	[34]	0,171	0,173	0,152	0,098	0,095	0,090	0,078	0,079	0,087
<i>T. microphylla</i>	[35]	0,173	0,174	0,155	0,099	0,096	0,085	0,073	0,068	0,087
<i>T. villosa</i>	[36]	0,194	0,189	0,162	0,118	0,115	0,106	0,103	0,097	0,106
<i>T. procumbens</i>	[37]	0,191	0,193	0,180	0,115	0,112	0,101	0,101	0,095	0,091
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>dendrobryum</i>	[38]	0,185	0,187	0,167	0,113	0,111	0,099	0,100	0,094	0,090
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	[39]	0,184	0,186	0,167	0,107	0,104	0,093	0,087	0,082	0,090
<i>T. broteriana A</i>	[40]	0,188	0,190	0,171	0,121	0,118	0,103	0,100	0,094	0,096
<i>T. broteriana B</i>	[41]	0,183	0,192	0,173	0,125	0,122	0,107	0,104	0,098	0,100
<i>T. argentata</i>	[42]	0,196	0,191	0,178	0,097	0,094	0,092	0,093	0,087	0,083
<i>Di. vesiculosum</i>	[43]	0,196	0,198	0,175	0,210	0,206	0,206	0,209	0,202	0,189
<i>S. chamaejasme</i>	[44]	0,252	0,262	0,226	0,255	0,252	0,260	0,254	0,246	0,250
<i>Di. (=Dendrostellera) lessertii</i>	[45]	0,245	0,219	0,188	0,197	0,202	0,202	0,192	0,185	0,200
<i>W. canescens</i>	[46]	0,213	0,211	0,186	0,160	0,160	0,185	0,188	0,181	0,188
<i>W. (=Festella) albertii</i>	[47]	0,212	0,210	0,191	0,181	0,181	0,194	0,197	0,189	0,192
<i>Di. (=Stelleropsis) antoninae</i>	[48]	0,201	0,213	0,188	0,185	0,186	0,203	0,201	0,194	0,197
<i>G. carinata</i>	[49]	0,696	0,658	0,683	0,654	0,649	0,652	0,665	0,652	0,636

	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	[16]	[17]	[18]	[19]	[20]	[21]	[22]	[23]
[1]	0,156	0,150	0,163	0,160	0,166	0,157	0,157	0,133	0,133	0,136	0,136	0,132	0,160	0,157
[2]	0,154	0,162	0,168	0,165	0,171	0,162	0,162	0,138	0,137	0,143	0,141	0,130	0,161	0,157
[3]	0,144	0,148	0,155	0,152	0,158	0,149	0,149	0,126	0,126	0,123	0,123	0,112	0,149	0,145
[4]	0,055	0,102	0,119	0,116	0,122	0,119	0,113	0,095	0,094	0,078	0,078	0,077	0,097	0,094
[5]	0,053	0,104	0,116	0,113	0,118	0,115	0,109	0,092	0,088	0,075	0,075	0,074	0,094	0,091
[6]	0,051	0,093	0,108	0,105	0,111	0,108	0,102	0,084	0,081	0,067	0,065	0,067	0,089	0,086
[7]	0,046	0,083	0,109	0,106	0,111	0,109	0,103	0,085	0,073	0,070	0,067	0,067	0,095	0,092
[8]	0,048	0,083	0,102	0,099	0,105	0,102	0,096	0,079	0,067	0,064	0,062	0,062	0,089	0,086
[9]	0,042	0,099	0,107	0,104	0,110	0,101	0,101	0,077	0,082	0,073	0,071	0,066	0,086	0,083
[10]		0,096	0,104	0,101	0,106	0,104	0,098	0,074	0,079	0,070	0,068	0,063	0,083	0,080
[11]	0,105		0,089	0,086	0,091	0,089	0,083	0,071	0,070	0,057	0,054	0,057	0,080	0,077
[12]	0,114	0,098		0,002	0,007	0,005	0,005	0,041	0,041	0,054	0,052	0,063	0,069	0,066
[13]	0,111	0,095	0,002		0,005	0,002	0,002	0,039	0,038	0,051	0,049	0,060	0,072	0,069
[14]	0,118	0,101	0,007	0,005		0,007	0,007	0,044	0,044	0,057	0,054	0,065	0,077	0,074
[15]	0,114	0,098	0,005	0,002	0,007		0,005	0,041	0,041	0,054	0,052	0,063	0,075	0,072
[16]	0,108	0,092	0,005	0,002	0,007	0,005		0,041	0,041	0,054	0,052	0,057	0,075	0,072
[17]	0,079	0,075	0,044	0,041	0,047	0,044	0,044		0,014	0,042	0,040	0,050	0,062	0,060
[18]	0,085	0,076	0,044	0,041	0,047	0,044	0,044	0,015		0,041	0,039	0,050	0,062	0,059
[19]	0,076	0,060	0,058	0,055	0,061	0,058	0,058	0,044	0,044		0,002	0,019	0,044	0,041
[20]	0,073	0,057	0,055	0,052	0,058	0,055	0,055	0,041	0,041	0,002		0,017	0,039	0,037
[21]	0,068	0,061	0,067	0,064	0,070	0,067	0,061	0,052	0,052	0,020	0,017		0,044	0,041
[22]	0,092	0,088	0,076	0,079	0,085	0,082	0,082	0,067	0,067	0,047	0,041	0,047		0,002
[23]	0,088	0,085	0,073	0,076	0,082	0,079	0,079	0,064	0,064	0,044	0,038	0,044	0,002	
[24]	0,076	0,069	0,052	0,050	0,055	0,052	0,052	0,038	0,039	0,022	0,017	0,027	0,041	0,038
[25]	0,112	0,095	0,091	0,088	0,094	0,091	0,085	0,082	0,083	0,068	0,065	0,071	0,096	0,095
[26]	0,103	0,096	0,098	0,095	0,101	0,098	0,092	0,080	0,080	0,074	0,071	0,078	0,093	0,090
[27]	0,087	0,091	0,095	0,092	0,098	0,095	0,095	0,080	0,074	0,059	0,055	0,065	0,087	0,083
[28]	0,091	0,083	0,090	0,087	0,093	0,084	0,084	0,069	0,063	0,060	0,057	0,052	0,075	0,072
[29]	0,088	0,080	0,087	0,084	0,090	0,087	0,081	0,066	0,060	0,063	0,060	0,055	0,072	0,069
[30]	0,096	0,098	0,091	0,088	0,094	0,091	0,085	0,070	0,071	0,073	0,070	0,065	0,089	0,086
[31]	0,076	0,066	0,063	0,061	0,066	0,063	0,058	0,038	0,038	0,035	0,033	0,033	0,055	0,052
[32]	0,082	0,073	0,070	0,067	0,073	0,070	0,064	0,043	0,044	0,041	0,038	0,039	0,061	0,058
[33]	0,070	0,072	0,069	0,066	0,072	0,069	0,064	0,043	0,044	0,041	0,038	0,033	0,055	0,052
[34]	0,079	0,088	0,102	0,099	0,106	0,103	0,096	0,080	0,075	0,066	0,063	0,058	0,087	0,084
[35]	0,080	0,073	0,076	0,073	0,073	0,076	0,076	0,055	0,050	0,047	0,044	0,050	0,067	0,064
[36]	0,104	0,089	0,103	0,099	0,106	0,103	0,103	0,080	0,074	0,059	0,056	0,059	0,083	0,080
[37]	0,095	0,101	0,091	0,088	0,094	0,085	0,091	0,069	0,070	0,055	0,052	0,064	0,079	0,076
[38]	0,093	0,090	0,081	0,078	0,084	0,075	0,081	0,060	0,060	0,046	0,044	0,055	0,069	0,066
[39]	0,087	0,078	0,075	0,072	0,078	0,075	0,075	0,055	0,055	0,046	0,044	0,055	0,064	0,061
[40]	0,082	0,091	0,088	0,085	0,091	0,088	0,088	0,060	0,061	0,058	0,055	0,061	0,067	0,064
[41]	0,091	0,082	0,085	0,082	0,088	0,085	0,085	0,064	0,064	0,055	0,052	0,058	0,064	0,061
[42]	0,089	0,098	0,095	0,092	0,098	0,089	0,095	0,073	0,073	0,059	0,056	0,062	0,079	0,076
[43]	0,198	0,187	0,192	0,188	0,188	0,192	0,192	0,163	0,171	0,146	0,144	0,160	0,187	0,183
[44]	0,242	0,235	0,227	0,223	0,222	0,219	0,227	0,216	0,217	0,199	0,194	0,212	0,218	0,213
[45]	0,196	0,207	0,201	0,197	0,205	0,201	0,201	0,178	0,179	0,153	0,151	0,164	0,190	0,185
[46]	0,179	0,193	0,190	0,186	0,194	0,190	0,182	0,168	0,169	0,143	0,142	0,150	0,170	0,165
[47]	0,184	0,194	0,181	0,177	0,185	0,181	0,181	0,162	0,170	0,143	0,142	0,158	0,182	0,178
[48]	0,196	0,191	0,188	0,188	0,196	0,192	0,192	0,170	0,171	0,151	0,150	0,167	0,175	0,171
[49]	0,672	0,612	0,625	0,631	0,642	0,638	0,631	0,608	0,601	0,556	0,544	0,571	0,592	0,583





	[24]	[25]	[26]	[27]	[28]	[29]	[30]	[31]	[32]	[33]	[34]	[35]	[36]	[37]
[1]	0,131	0,164	0,166	0,159	0,138	0,149	0,152	0,137	0,142	0,137	0,142	0,145	0,154	0,154
[2]	0,134	0,168	0,163	0,156	0,130	0,146	0,147	0,128	0,133	0,135	0,146	0,145	0,151	0,158
[3]	0,130	0,163	0,157	0,144	0,125	0,135	0,147	0,124	0,129	0,124	0,131	0,134	0,133	0,154
[4]	0,081	0,116	0,107	0,103	0,107	0,107	0,107	0,081	0,086	0,084	0,088	0,089	0,101	0,104
[5]	0,078	0,113	0,104	0,100	0,103	0,104	0,104	0,078	0,083	0,080	0,085	0,086	0,099	0,100
[6]	0,065	0,105	0,096	0,092	0,090	0,098	0,094	0,070	0,075	0,076	0,083	0,078	0,094	0,092
[7]	0,070	0,101	0,092	0,082	0,084	0,087	0,085	0,065	0,070	0,070	0,073	0,067	0,091	0,093
[8]	0,065	0,100	0,092	0,082	0,078	0,081	0,080	0,060	0,064	0,065	0,073	0,062	0,085	0,087
[9]	0,067	0,092	0,084	0,079	0,076	0,085	0,082	0,063	0,068	0,068	0,082	0,081	0,094	0,084
[10]	0,070	0,101	0,093	0,079	0,084	0,082	0,085	0,071	0,076	0,065	0,073	0,072	0,092	0,088
[11]	0,064	0,087	0,088	0,086	0,079	0,077	0,088	0,063	0,068	0,068	0,082	0,067	0,080	0,093
[12]	0,048	0,083	0,089	0,086	0,084	0,081	0,082	0,060	0,064	0,065	0,095	0,069	0,091	0,083
[13]	0,046	0,080	0,086	0,083	0,081	0,078	0,080	0,057	0,062	0,062	0,092	0,066	0,089	0,080
[14]	0,051	0,085	0,092	0,089	0,086	0,084	0,085	0,062	0,067	0,068	0,098	0,066	0,094	0,086
[15]	0,048	0,083	0,089	0,086	0,078	0,081	0,082	0,059	0,064	0,065	0,095	0,069	0,091	0,077
[16]	0,048	0,077	0,083	0,086	0,078	0,075	0,077	0,054	0,059	0,060	0,089	0,069	0,091	0,083
[17]	0,036	0,076	0,073	0,074	0,066	0,063	0,064	0,037	0,042	0,042	0,078	0,052	0,073	0,065
[18]	0,036	0,075	0,073	0,068	0,060	0,057	0,064	0,037	0,041	0,042	0,071	0,046	0,067	0,065
[19]	0,021	0,062	0,068	0,054	0,058	0,060	0,067	0,034	0,039	0,040	0,063	0,044	0,054	0,052
[20]	0,017	0,059	0,065	0,052	0,055	0,058	0,064	0,032	0,037	0,037	0,060	0,042	0,052	0,049
[21]	0,026	0,065	0,071	0,060	0,050	0,052	0,059	0,032	0,037	0,032	0,055	0,047	0,054	0,060
[22]	0,039	0,086	0,084	0,078	0,070	0,068	0,081	0,052	0,057	0,052	0,081	0,062	0,075	0,073
[23]	0,036	0,086	0,081	0,075	0,067	0,065	0,078	0,049	0,054	0,049	0,079	0,060	0,073	0,070
[24]		0,061	0,062	0,057	0,052	0,055	0,062	0,029	0,034	0,034	0,060	0,039	0,057	0,046
[25]	0,068		0,037	0,055	0,074	0,077	0,085	0,054	0,059	0,065	0,081	0,084	0,091	0,074
[26]	0,069	0,038		0,053	0,077	0,080	0,086	0,050	0,055	0,061	0,076	0,081	0,092	0,081
[27]	0,062	0,058	0,055		0,074	0,078	0,083	0,053	0,057	0,058	0,073	0,070	0,078	0,087
[28]	0,055	0,078	0,081	0,078		0,012	0,054	0,042	0,047	0,037	0,060	0,057	0,067	0,065
[29]	0,058	0,081	0,084	0,081	0,012		0,056	0,045	0,049	0,039	0,063	0,055	0,070	0,073
[30]	0,068	0,094	0,095	0,092	0,058	0,061		0,051	0,056	0,051	0,064	0,064	0,083	0,080
[31]	0,030	0,059	0,054	0,056	0,043	0,046	0,056		0,005	0,010	0,053	0,039	0,054	0,052
[32]	0,036	0,065	0,060	0,063	0,049	0,052	0,062	0,005		0,014	0,057	0,044	0,059	0,057
[33]	0,036	0,071	0,065	0,062	0,038	0,041	0,056	0,010	0,015		0,052	0,044	0,060	0,057
[34]	0,063	0,089	0,083	0,080	0,063	0,066	0,070	0,054	0,061	0,055		0,051	0,067	0,084
[35]	0,042	0,092	0,090	0,078	0,061	0,058	0,071	0,041	0,047	0,047	0,055		0,064	0,068
[36]	0,062	0,103	0,104	0,088	0,073	0,075	0,093	0,059	0,065	0,065	0,074	0,072		0,078
[37]	0,050	0,083	0,090	0,097	0,069	0,078	0,089	0,055	0,061	0,061	0,090	0,073	0,086	
[38]	0,047	0,074	0,080	0,089	0,060	0,069	0,079	0,046	0,052	0,052	0,083	0,069	0,077	0,007
[39]	0,041	0,074	0,080	0,083	0,055	0,057	0,067	0,046	0,052	0,052	0,072	0,058	0,071	0,017
[40]	0,049	0,092	0,089	0,089	0,060	0,063	0,080	0,057	0,063	0,052	0,072	0,070	0,079	0,055
[41]	0,047	0,083	0,090	0,081	0,064	0,066	0,083	0,055	0,061	0,049	0,075	0,067	0,082	0,058
[42]	0,053	0,093	0,094	0,103	0,073	0,082	0,087	0,058	0,064	0,064	0,088	0,068	0,081	0,053
[43]	0,156	0,207	0,212	0,207	0,193	0,192	0,197	0,166	0,175	0,173	0,195	0,176	0,175	0,171
[44]	0,200	0,261	0,266	0,261	0,232	0,239	0,259	0,210	0,221	0,219	0,243	0,221	0,230	0,216
[45]	0,164	0,219	0,224	0,202	0,190	0,189	0,219	0,169	0,179	0,177	0,204	0,184	0,187	0,186
[46]	0,140	0,205	0,202	0,205	0,176	0,175	0,189	0,149	0,158	0,153	0,174	0,163	0,182	0,167
[47]	0,147	0,222	0,219	0,206	0,191	0,191	0,189	0,164	0,173	0,172	0,182	0,164	0,174	0,183
[48]	0,148	0,203	0,208	0,203	0,192	0,192	0,207	0,165	0,174	0,173	0,191	0,168	0,188	0,183
[49]	0,539	0,609	0,612	0,619	0,571	0,582	0,642	0,572	0,594	0,588	0,597	0,586	0,582	0,594



	[38]	[39]	[40]	[41]	[42]	[43]	[44]	[45]	[46]	[47]	[48]	[49]
[1]	0,152	0,149	0,154	0,150	0,154	0,157	0,202	0,191	0,167	0,165	0,161	0,389
[2]	0,156	0,153	0,158	0,162	0,152	0,161	0,210	0,177	0,168	0,167	0,173	0,369
[3]	0,145	0,143	0,147	0,149	0,148	0,145	0,184	0,153	0,152	0,154	0,156	0,390
[4]	0,104	0,098	0,109	0,112	0,086	0,171	0,200	0,157	0,130	0,145	0,150	0,377
[5]	0,101	0,095	0,106	0,109	0,083	0,168	0,196	0,160	0,130	0,146	0,150	0,372
[6]	0,093	0,087	0,095	0,098	0,083	0,168	0,204	0,161	0,149	0,155	0,163	0,377
[7]	0,093	0,081	0,092	0,096	0,083	0,173	0,202	0,156	0,151	0,159	0,164	0,389
[8]	0,087	0,075	0,086	0,089	0,077	0,166	0,194	0,149	0,145	0,152	0,157	0,381
[9]	0,085	0,084	0,090	0,094	0,074	0,157	0,199	0,162	0,152	0,156	0,161	0,364
[10]	0,089	0,081	0,076	0,085	0,080	0,164	0,193	0,160	0,143	0,147	0,158	0,383
[11]	0,084	0,071	0,084	0,076	0,088	0,153	0,184	0,164	0,154	0,155	0,154	0,353
[12]	0,075	0,069	0,080	0,078	0,085	0,157	0,179	0,158	0,153	0,148	0,152	0,359
[13]	0,072	0,066	0,078	0,075	0,082	0,154	0,176	0,155	0,150	0,145	0,152	0,362
[14]	0,078	0,072	0,083	0,081	0,088	0,153	0,175	0,162	0,157	0,151	0,158	0,367
[15]	0,069	0,069	0,080	0,078	0,079	0,157	0,173	0,158	0,153	0,148	0,155	0,366
[16]	0,075	0,069	0,080	0,078	0,085	0,157	0,179	0,158	0,147	0,148	0,155	0,363
[17]	0,058	0,052	0,057	0,061	0,067	0,136	0,172	0,144	0,138	0,132	0,140	0,350
[18]	0,057	0,051	0,057	0,060	0,067	0,142	0,172	0,143	0,138	0,138	0,140	0,351
[19]	0,044	0,044	0,055	0,052	0,054	0,121	0,159	0,123	0,118	0,118	0,125	0,323
[20]	0,042	0,041	0,052	0,050	0,051	0,121	0,156	0,123	0,118	0,118	0,125	0,320
[21]	0,052	0,051	0,057	0,055	0,056	0,133	0,169	0,132	0,123	0,130	0,137	0,330
[22]	0,065	0,060	0,062	0,060	0,072	0,154	0,173	0,153	0,138	0,148	0,144	0,344
[23]	0,062	0,057	0,059	0,057	0,069	0,151	0,169	0,149	0,135	0,145	0,140	0,340
[24]	0,044	0,039	0,047	0,044	0,049	0,129	0,158	0,131	0,115	0,121	0,122	0,318
[25]	0,067	0,066	0,083	0,075	0,082	0,165	0,201	0,170	0,161	0,174	0,160	0,352
[26]	0,073	0,072	0,080	0,082	0,082	0,169	0,205	0,174	0,158	0,171	0,164	0,350
[27]	0,082	0,075	0,081	0,073	0,091	0,165	0,201	0,158	0,160	0,162	0,160	0,354
[28]	0,057	0,051	0,057	0,060	0,067	0,160	0,184	0,152	0,143	0,156	0,158	0,341
[29]	0,065	0,054	0,060	0,063	0,075	0,160	0,192	0,152	0,143	0,156	0,158	0,344
[30]	0,072	0,061	0,072	0,074	0,077	0,158	0,200	0,170	0,151	0,152	0,167	0,369
[31]	0,044	0,044	0,055	0,053	0,054	0,139	0,169	0,138	0,123	0,135	0,137	0,336
[32]	0,049	0,049	0,060	0,058	0,059	0,144	0,175	0,143	0,128	0,141	0,142	0,343
[33]	0,050	0,049	0,049	0,047	0,059	0,145	0,176	0,144	0,126	0,142	0,143	0,343
[34]	0,079	0,067	0,068	0,071	0,080	0,164	0,196	0,165	0,143	0,150	0,158	0,352
[35]	0,065	0,054	0,065	0,062	0,062	0,148	0,178	0,149	0,134	0,135	0,140	0,349
[36]	0,070	0,064	0,073	0,076	0,072	0,142	0,179	0,147	0,144	0,138	0,149	0,336
[37]	0,007	0,016	0,052	0,055	0,049	0,141	0,171	0,149	0,134	0,146	0,148	0,348
[38]		0,009	0,044	0,047	0,049	0,133	0,162	0,141	0,132	0,144	0,146	0,337
[39]	0,010		0,034	0,036	0,049	0,132	0,161	0,140	0,125	0,137	0,139	0,330
[40]	0,046	0,035		0,022	0,062	0,138	0,168	0,146	0,143	0,149	0,151	0,345
[41]	0,049	0,038	0,022		0,067	0,142	0,172	0,150	0,146	0,153	0,145	0,355
[42]	0,052	0,052	0,067	0,073		0,156	0,180	0,155	0,134	0,140	0,136	0,339
[43]	0,158	0,158	0,166	0,170	0,191		0,083	0,078	0,104	0,097	0,089	0,323
[44]	0,201	0,201	0,210	0,216	0,231	0,089		0,102	0,126	0,134	0,122	0,350
[45]	0,172	0,172	0,181	0,186	0,196	0,085	0,113		0,118	0,130	0,108	0,344
[46]	0,161	0,154	0,176	0,181	0,164	0,121	0,148	0,140		0,055	0,062	0,304
[47]	0,176	0,169	0,185	0,190	0,173	0,112	0,161	0,159	0,058		0,074	0,329
[48]	0,177	0,170	0,186	0,179	0,166	0,101	0,142	0,126	0,067	0,081		0,315
[49]	0,565	0,552	0,581	0,605	0,590	0,543	0,593	0,597	0,499	0,556	0,517	

## 7.5. Test de Kumar & Gadagkar

Resultados del test de homogeneidad entre los procesos de sustitución de las secuencias basado en el índice de disparidad ( $I_b$ ) (KUMAR & GADAGKAR, 2001). En la parte superior derecha de la tabla se muestran los valores que toma  $I_b$ ; en la mitad inferior izquierda las probabilidades estimadas para dichos valores bajo la hipótesis nula de homogeneidad. La negrita indica el rechazo de la hipótesis nula al nivel de significación del 5 % ( $P < 0,05$ ). La aproximación de Monte Carlo a la distribución de probabilidades se efectuó con 5000 repeticiones, las posiciones con *gaps* en al menos una de las secuencias comparadas se eliminaron y se tuvo en cuenta un solo representante por especie.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Da. cneorum</i>	[ 1]	-	[0,000]	[0,137]	[1,331]	[1,343]	[0,900]	[1,098]	[0,371]	[0,403]
<i>Da. gnidium</i>	[ 2]	1,000	-	[0,210]	[1,598]	[1,571]	[1,129]	[1,343]	[0,510]	[0,547]
<i>Da. oleoides</i>	[ 3]	<b>0,014</b>	<b>0,002</b>	-	[0,653]	[0,627]	[0,385]	[0,508]	[0,019]	[0,050]
<i>T. passerina</i>	[ 4]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	-	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,231]	[0,208]
<i>T. salsa B</i>	[ 5]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	1,000	-	[0,066]	[0,024]	[0,229]	[0,225]
<i>T. aucheri</i>	[ 6]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>	1,000	<b>0,047</b>	-	[0,005]	[0,116]	[0,080]
<i>T. cilicica</i>	[ 7]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	1,000	0,179	0,251	-	[0,179]	[0,147]
<i>T. mesopotamica</i>	[ 8]	<b>0,009</b>	<b>0,001</b>	0,325	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>	<b>0,003</b>	-	[0,000]
<i>T. gussonei</i>	[ 9]	<b>0,009</b>	<b>0,002</b>	0,250	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,039</b>	<b>0,007</b>	1,000	-
<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i>	[10]	<b>0,023</b>	<b>0,008</b>	1,000	<b>0,009</b>	<b>0,011</b>	0,094	<b>0,035</b>	1,000	1,000
<i>T. velutina A</i>	[11]	<b>0,005</b>	<b>0,002</b>	0,365	<b>0,033</b>	0,055	0,063	<b>0,033</b>	1,000	0,372
<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i>	[12]	<b>0,003</b>	<b>0,001</b>	0,244	<b>0,043</b>	0,103	0,071	<b>0,048</b>	1,000	0,252
<i>T. putorioides</i>	[13]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,031</b>	0,295	1,000	1,000	0,374	0,390	0,350
<i>T. sempervirens</i>	[14]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,060	0,227	0,314	0,229	0,203	1,000	0,335
<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	[15]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,011</b>	0,257	1,000	0,216	0,250	0,188	0,145
<i>T. sanamunda A</i>	[16]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,093	0,051	0,099	0,110	0,059	1,000	0,364
<i>T. dioica A</i>	[17]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,010</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	0,137	0,215
<i>T. granatensis B</i>	[18]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	1,000	1,000	0,275	1,000	<b>0,020</b>	<b>0,024</b>
<i>T. ruizii B</i>	[19]	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	0,139	0,381	0,284	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>T. subrepens</i>	[20]	<b>0,010</b>	<b>0,001</b>	0,297	0,084	<b>0,032</b>	1,000	0,235	1,000	1,000
<i>T. calycina</i>	[21]	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	0,106	0,227	0,149	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>T. lythroides</i>	[22]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,013</b>	1,000	1,000	0,369	1,000	0,140	0,141
<i>T. lanuginosa</i>	[23]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,035</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	0,327	0,317
<i>T. hirsuta</i>	[24]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,037</b>	1,000	0,308	1,000	1,000	0,291	0,387
<i>T. virgata</i> subsp. <i>broussoneti A</i>	[25]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,028</b>	0,311	1,000	1,000	0,398	0,279	0,301
<i>T. antiatlantica</i>	[26]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,047</b>	0,179	0,319	0,226	0,184	0,375	0,282
<i>T. virescens</i>	[27]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,085	0,249	0,181	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>T. microphylla</i>	[28]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	<b>0,034</b>	<b>0,031</b>
<i>T. villosa</i>	[29]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,065	0,306	0,312	1,000	0,350	1,000	0,343
<i>T. procumbens</i>	[30]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,021</b>	1,000	1,000	0,327	1,000	0,155	0,143
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>dendrobryum</i>	[31]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,022</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	0,174	0,160
<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	[32]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	1,000	1,000	0,170	0,390	<b>0,009</b>	<b>0,006</b>
<i>T. broteriana B</i>	[33]	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	0,184	0,167	0,208	0,330	0,225	1,000	1,000
<i>T. argentata</i>	[34]	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	0,066	0,082
<i>Di. vesiculosum</i>	[35]	<b>0,011</b>	<b>0,003</b>	1,000	0,146	0,187	0,342	0,243	1,000	1,000
<i>S. chamaejasme</i>	[36]	<b>0,047</b>	<b>0,014</b>	1,000	0,164	0,186	0,376	0,275	1,000	1,000
<i>Di. (=Dendrostellera) lessertii</i>	[37]	<b>0,027</b>	<b>0,007</b>	1,000	<b>0,046</b>	0,056	0,131	0,078	1,000	1,000
<i>W. canescens</i>	[38]	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	0,097	<b>0,018</b>	0,097	<b>0,033</b>	<b>0,028</b>	0,215	0,093
<i>W. (=Restella) albertii</i>	[39]	<b>0,017</b>	<b>0,004</b>	1,000	0,090	0,137	0,346	0,209	1,000	1,000
<i>Di. (=Stelleropsis) antoninae</i>	[40]	<b>0,010</b>	<b>0,002</b>	0,356	0,155	0,176	0,363	0,270	1,000	1,000



	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
[ 1]	[0,300]	[0,440]	[0,536]	[0,817]	[0,729]	[0,922]	[0,633]	[0,983]	[1,213]	[0,645]	[0,433]	[0,621]	[0,931]	[0,805]
[ 2]	[0,412]	[0,581]	[0,681]	[0,976]	[0,900]	[1,086]	[0,781]	[1,214]	[1,421]	[0,852]	[0,610]	[0,800]	[1,152]	[1,024]
[ 3]	[0,000]	[0,005]	[0,052]	[0,219]	[0,164]	[0,283]	[0,119]	[0,360]	[0,464]	[0,126]	[0,036]	[0,131]	[0,295]	[0,229]
[ 4]	[0,249]	[0,209]	[0,185]	[0,024]	[0,043]	[0,029]	[0,116]	[0,000]	[0,000]	[0,005]	[0,121]	[0,040]	[0,000]	[0,000]
[ 5]	[0,242]	[0,152]	[0,114]	[0,000]	[0,014]	[0,000]	[0,071]	[0,000]	[0,000]	[0,029]	[0,166]	[0,069]	[0,000]	[0,000]
[ 6]	[0,086]	[0,138]	[0,147]	[0,000]	[0,031]	[0,036]	[0,067]	[0,000]	[0,021]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,005]	[0,000]
[ 7]	[0,152]	[0,171]	[0,166]	[0,005]	[0,038]	[0,026]	[0,086]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,036]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[ 8]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,000]	[0,043]	[0,000]	[0,069]	[0,143]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,059]	[0,012]
[ 9]	[0,000]	[0,010]	[0,038]	[0,010]	[0,007]	[0,055]	[0,005]	[0,040]	[0,136]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,062]	[0,012]
[10]	-	[0,000]	[0,014]	[0,033]	[0,021]	[0,088]	[0,005]	[0,112]	[0,191]	[0,002]	[0,000]	[0,000]	[0,093]	[0,050]
[11]	1,000	-	[0,000]	[0,052]	[0,007]	[0,055]	[0,000]	[0,162]	[0,160]	[0,002]	[0,031]	[0,038]	[0,024]	[0,029]
[12]	0,331	0,410	-	[0,043]	[0,000]	[0,036]	[0,000]	[0,162]	[0,131]	[0,007]	[0,059]	[0,052]	[0,005]	[0,024]
[13]	0,220	0,066	0,120	-	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,005]	[0,002]	[0,000]	[0,019]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[14]	0,283	0,342	1,000	1,000	-	[0,000]	[0,000]	[0,026]	[0,024]	[0,000]	[0,012]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[15]	<b>0,045</b>	0,105	0,169	1,000	1,000	-	[0,007]	[0,036]	[0,000]	[0,005]	[0,067]	[0,012]	[0,000]	[0,000]
[16]	0,364	1,000	1,000	1,000	1,000	0,266	-	[0,078]	[0,067]	[0,000]	[0,012]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[17]	0,064	<b>0,021</b>	<b>0,020</b>	0,344	0,239	0,149	<b>0,031</b>	-	[0,017]	[0,000]	[0,012]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[18]	<b>0,006</b>	<b>0,003</b>	<b>0,010</b>	0,366	0,186	1,000	<b>0,012</b>	0,225	-	[0,033]	[0,134]	[0,048]	[0,000]	[0,000]
[19]	0,391	0,391	0,347	1,000	1,000	0,338	1,000	1,000	0,187	-	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[20]	1,000	0,258	0,156	0,289	0,313	0,117	0,343	0,314	<b>0,021</b>	0,373	-	[0,000]	[0,050]	[0,000]
[21]	1,000	0,238	0,173	1,000	1,000	0,292	1,000	1,000	0,143	1,000	1,000	-	[0,000]	[0,000]
[22]	0,076	0,284	0,375	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,166	1,000	-	[0,000]
[23]	0,177	0,258	0,283	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-
[24]	0,190	0,120	0,118	1,000	1,000	0,319	0,221	1,000	0,281	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[25]	0,151	0,170	0,226	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,389	1,000	0,162	1,000	1,000	1,000
[26]	0,242	0,336	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,184	0,227	1,000	0,238	1,000	1,000	1,000
[27]	1,000	0,338	0,266	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,226	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[28]	<b>0,006</b>	<b>0,012</b>	<b>0,022</b>	0,351	0,188	0,383	0,050	1,000	1,000	0,379	0,072	0,232	1,000	1,000
[29]	0,248	1,000	1,000	1,000	1,000	0,360	1,000	0,391	0,213	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[30]	0,110	0,237	0,334	1,000	1,000	1,000	1,000	0,387	1,000	1,000	0,113	1,000	1,000	1,000
[31]	0,095	0,244	0,326	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,158	1,000	1,000	1,000
[32]	<b>0,001</b>	<b>0,008</b>	<b>0,017</b>	0,094	0,109	0,123	<b>0,023</b>	0,190	1,000	0,145	<b>0,010</b>	0,068	1,000	0,269
[33]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,173	0,087	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[34]	<b>0,044</b>	0,085	0,132	1,000	1,000	1,000	0,193	1,000	1,000	1,000	0,159	1,000	1,000	1,000
[35]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,277	0,190	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[36]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,307	1,000	0,223	0,130	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[37]	1,000	1,000	1,000	0,317	1,000	0,192	1,000	0,173	0,086	1,000	1,000	1,000	0,337	1,000
[38]	0,194	1,000	1,000	0,219	1,000	0,188	1,000	<b>0,027</b>	0,056	0,294	0,122	0,134	0,339	0,223
[39]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,275	0,145	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
[40]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,303	1,000	0,363	0,149	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000





	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
[ 1]	[0,795]	[0,831]	[0,760]	[0,657]	[1,212]	[0,700]	[0,967]	[0,921]	[1,350]	[0,600]	[1,062]	[0,399]	[0,284]	[0,364]
[ 2]	[1,031]	[1,017]	[0,921]	[0,840]	[1,445]	[0,914]	[1,157]	[1,133]	[1,610]	[0,745]	[1,300]	[0,554]	[0,449]	[0,483]
[ 3]	[0,236]	[0,233]	[0,186]	[0,148]	[0,481]	[0,167]	[0,295]	[0,281]	[0,567]	[0,083]	[0,379]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[ 4]	[0,000]	[0,012]	[0,052]	[0,033]	[0,000]	[0,019]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,071]	[0,000]	[0,126]	[0,121]	[0,243]
[ 5]	[0,019]	[0,000]	[0,014]	[0,052]	[0,000]	[0,019]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,045]	[0,000]	[0,095]	[0,107]	[0,215]
[ 6]	[0,000]	[0,000]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,017]	[0,000]	[0,055]	[0,014]	[0,000]	[0,021]	[0,007]	[0,129]
[ 7]	[0,000]	[0,002]	[0,036]	[0,000]	[0,000]	[0,007]	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,038]	[0,000]	[0,064]	[0,056]	[0,181]
[ 8]	[0,021]	[0,019]	[0,000]	[0,000]	[0,140]	[0,000]	[0,059]	[0,052]	[0,223]	[0,000]	[0,102]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[ 9]	[0,002]	[0,014]	[0,014]	[0,000]	[0,133]	[0,007]	[0,069]	[0,060]	[0,226]	[0,000]	[0,090]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[10]	[0,048]	[0,048]	[0,024]	[0,000]	[0,200]	[0,031]	[0,088]	[0,088]	[0,287]	[0,000]	[0,133]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[11]	[0,074]	[0,038]	[0,005]	[0,014]	[0,166]	[0,000]	[0,031]	[0,031]	[0,188]	[0,000]	[0,095]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[12]	[0,078]	[0,029]	[0,000]	[0,024]	[0,147]	[0,000]	[0,007]	[0,012]	[0,150]	[0,000]	[0,076]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[13]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,005]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,055]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,026]
[14]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,052]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[15]	[0,014]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,002]	[0,000]	[0,000]	[0,038]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,031]	[0,067]
[16]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,071]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,109]	[0,000]	[0,033]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[17]	[0,000]	[0,000]	[0,031]	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,005]	[0,000]	[0,031]	[0,040]	[0,000]	[0,040]	[0,073]	[0,093]
[18]	[0,019]	[0,002]	[0,017]	[0,029]	[0,000]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,048]	[0,000]	[0,077]	[0,133]	[0,151]
[19]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,052]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[20]	[0,000]	[0,033]	[0,029]	[0,000]	[0,102]	[0,000]	[0,069]	[0,052]	[0,195]	[0,000]	[0,059]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[21]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,102]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[22]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,021]
[23]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,017]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[24]	-	[0,000]	[0,014]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,038]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,014]
[25]	1,000	-	[0,000]	[0,000]	[0,002]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,040]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,043]
[26]	0,259	1,000	-	[0,000]	[0,026]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,064]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,014]
[27]	1,000	1,000	1,000	-	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,078]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[28]	1,000	0,353	0,187	0,205	-	[0,017]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,048]	[0,000]	[0,074]	[0,121]	[0,181]
[29]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,301	-	[0,000]	[0,000]	[0,031]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[30]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	[0,000]	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,019]	[0,029]
[31]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,320	-	[0,029]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[32]	0,169	0,131	0,072	0,083	1,000	0,204	<b>0,046</b>	<b>0,001</b>	-	[0,121]	[0,000]	[0,121]	[0,169]	[0,153]
[33]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,153	1,000	1,000	1,000	<b>0,004</b>	-	[0,014]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[34]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,317	-	[0,010]	[0,046]	[0,095]
[35]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,192	1,000	1,000	1,000	0,115	1,000	0,361	-	[0,000]	[0,000]
[36]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,142	1,000	0,345	1,000	0,095	1,000	0,277	1,000	-	[0,000]
[37]	0,353	0,254	0,354	1,000	0,073	1,000	0,296	0,386	0,089	1,000	0,173	1,000	1,000	-
[38]	0,114	0,196	0,279	0,155	0,054	1,000	0,292	0,303	0,063	1,000	0,110	1,000	1,000	1,000
[39]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,162	1,000	1,000	1,000	0,096	1,000	0,298	1,000	1,000	1,000
[40]	1,000	1,000	1,000	1,000	0,199	1,000	1,000	1,000	0,180	1,000	0,380	1,000	1,000	1,000

	38	39	40]
[ 1]	[0,647]	[0,357]	[0,401]
[ 2]	[0,805]	[0,506]	[0,594]
[ 3]	[0,145]	[0,000]	[0,007]
[ 4]	[0,280]	[0,155]	[0,101]
[ 5]	[0,152]	[0,119]	[0,094]
[ 6]	[0,264]	[0,021]	[0,007]
[ 7]	[0,266]	[0,071]	[0,043]
[ 8]	[0,069]	[0,000]	[0,000]
[ 9]	[0,148]	[0,000]	[0,000]
[10]	[0,081]	[0,000]	[0,000]
[11]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[12]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[13]	[0,057]	[0,000]	[0,000]
[14]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[15]	[0,064]	[0,000]	[0,026]
[16]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[17]	[0,247]	[0,040]	[0,007]
[18]	[0,162]	[0,091]	[0,092]
[19]	[0,036]	[0,000]	[0,000]
[20]	[0,140]	[0,000]	[0,000]
[21]	[0,126]	[0,000]	[0,000]
[22]	[0,019]	[0,000]	[0,000]
[23]	[0,062]	[0,000]	[0,000]
[24]	[0,135]	[0,000]	[0,000]
[25]	[0,069]	[0,000]	[0,000]
[26]	[0,029]	[0,000]	[0,000]
[27]	[0,105]	[0,000]	[0,000]
[28]	[0,185]	[0,090]	[0,067]
[29]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[30]	[0,031]	[0,000]	[0,000]
[31]	[0,029]	[0,000]	[0,000]
[32]	[0,157]	[0,138]	[0,082]
[33]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[34]	[0,121]	[0,031]	[0,005]
[35]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[36]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[37]	[0,000]	[0,000]	[0,000]
[38]	-	[0,062]	[0,057]
[39]	0,088	-	[0,000]
[40]	0,124	1,000	-

## 7.6. Test de Shimodaira - Hasegawa

Resultados del test de Shimodaira-Hasegawa, con el que se comparan las topologías resultantes de los análisis filogenéticos de secuencias (2 a 175) y la topología que representa la hipótesis de radiación en la que están implicados los doce clados cuyas relaciones no están justificadas por señal filogenética alguna (1; v. pág. 109 y fig. 4.5). La hipótesis nula (*i.e.*, todas las topologías constituyen explicaciones igualmente adecuadas de los datos) es aceptada en todas las comparaciones del test, considerando un nivel de significación del 5 %.  $\delta$  : estadístico del test, definido por la expresión  $\ln L_{ML} - \ln L_X$  donde  $L_{ML}$  es el máximo valor de verosimilitud entre las topologías comparadas y  $L_X$  es el valor de verosimilitud de la topología alternativa. Distribución del estadístico generada a partir de 1000 repeticiones *bootstrap* y estimación de los valores de máxima verosimilitud con el método RELL (KISHINO & *al.*, 1990). REV+Γ es el modelo de sustitución asumido. Test de una cola.

Topología	-lnL	$\delta$	P
1 (MP majority rule 27,5 %)	3360,88380	27,47320	0,063
2 (MP)	3348,89509	15,48449	0,356
3 (MP)	3349,00003	15,58943	0,357
4 (MP)	3338,72266	5,31206	0,926
5 (MP)	3338,72266	5,31206	0,926
6 (MP)	3340,11645	6,70585	0,839
7 (MP)	3340,29443	6,88383	0,811
8 (MP)	3333,41060	0,00000	0,999
9 (MP)	3333,41060	0,00000	1,000
10 (MP)	3333,41060	0,00000	0,997
11 (MP)	3337,39732	3,98672	0,853
12 (MP)	3333,41060	0,00000	1,000
13 (MP)	3333,41060	0,00000	1,000
14 (MP)	3340,11645	6,70585	0,839
15 (MP)	3340,29443	6,88383	0,811
16 (MP)	3333,41060	0,00000	1,000
17 (MP)	3333,41060	0,00000	1,000
18 (MP)	3333,41060	(best)	
19 (MP)	3337,39732	3,98672	0,853
20 (MP)	3333,41060	0,00000	0,999
21 (MP)	3342,05300	8,64240	0,728
22 (MP)	3341,38199	7,97139	0,785
23 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
24 (MP)	3339,44309	6,03249	0,753
25 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
26 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
27 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925



28 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
29 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
30 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
31 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
32 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
33 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
34 (MP)	3342,05300	8,64240	0,728
35 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
36 (MP)	3339,44309	6,03249	0,753
37 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
38 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
39 (MP)	3334,96924	1,55864	0,925
40 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
41 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
42 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
43 (MP)	3334,90336	1,49276	0,935
44 (MP)	3339,34561	5,93501	0,867
45 (MP)	3339,69889	6,28829	0,822
46 (MP)	3340,57778	7,16718	0,769
47 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
48 (MP)	3337,82971	4,41910	0,942
49 (MP)	3341,80488	8,39427	0,740
50 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
51 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
52 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
53 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
54 (MP)	3339,73424	6,32364	0,862
55 (MP)	3340,01997	6,60937	0,796
56 (MP)	3336,65383	3,24323	0,981
57 (MP)	3341,18331	7,77271	0,788
58 (MP)	3336,65383	3,24323	0,981
59 (MP)	3336,65383	3,24323	0,981
60 (MP)	3341,80488	8,39427	0,740
61 (MP)	3339,97668	6,56608	0,835
62 (MP)	3342,73259	9,32199	0,659
63 (MP)	3334,83852	1,42792	0,999
64 (MP)	3334,83852	1,42792	0,999
65 (MP)	3334,83852	1,42792	0,999
66 (MP)	3340,95180	7,54120	0,773
67 (MP)	3339,30636	5,89576	0,882
68 (MP)	3343,21944	9,80884	0,593
69 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
70 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
71 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
72 (MP)	3341,45322	8,04262	0,763
73 (MP)	3337,82971	4,41910	0,942

74 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
75 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
76 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
77 (MP)	3337,24727	3,83667	0,955
78 (MP)	3341,45322	8,04262	0,763
79 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
80 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
81 (MP)	3340,51884	7,10823	0,798
82 (MP)	3342,41723	9,00663	0,648
83 (MP)	3339,79226	6,38166	0,840
84 (MP)	3340,40971	6,99910	0,809
85 (MP)	3343,12004	9,70944	0,633
86 (MP)	3335,23429	1,82369	0,987
87 (MP)	3335,23429	1,82369	0,987
88 (MP)	3335,23429	1,82369	0,987
89 (MP)	3336,43470	3,02410	0,952
90 (MP)	3336,43470	3,02410	0,952
91 (MP)	3336,43470	3,02410	0,952
92 (MP)	3341,51150	8,10090	0,747
93 (MP)	3341,59633	8,18573	0,715
94 (MP)	3340,68308	7,27248	0,741
95 (MP)	3336,22496	2,81436	0,980
96 (MP)	3336,22496	2,81436	0,980
97 (MP)	3336,22496	2,81436	0,980
98 (MP)	3340,07772	6,66712	0,776
99 (MP)	3343,85834	10,44774	0,566
100 (MP)	3344,34584	10,93523	0,561
101 (MP)	3342,65796	9,24736	0,658
102 (MP)	3336,36817	2,95757	0,954
103 (MP)	3336,36817	2,95757	0,954
104 (MP)	3336,36817	2,95757	0,954
105 (MP)	3343,63052	10,21992	0,602
106 (MP)	3343,63052	10,21992	0,602
107 (MP)	3337,10740	3,69680	0,959
108 (MP)	3344,60439	11,19378	0,508
109 (MP)	3339,79226	6,38166	0,840
110 (MP)	3337,05066	3,64006	0,910
111 (MP)	3337,05066	3,64006	0,910
112 (MP)	3337,05066	3,64006	0,910
113 (MP)	3340,40971	6,99910	0,809
114 (MP)	3341,81170	8,40110	0,713
115 (MP)	3338,71809	5,30748	0,817
116 (MP)	3338,71809	5,30748	0,817
117 (MP)	3338,71809	5,30748	0,817
118 (MP)	3345,80736	12,39676	0,466
119 (MP)	3338,57896	5,16835	0,911

120 (MP)	3338,57896	5,16835	0,911
121 (MP)	3338,57896	5,16835	0,911
122 (MP)	3343,32858	9,91798	0,609
123 (MP)	3339,19999	5,78939	0,877
124 (MP)	3339,19999	5,78939	0,877
125 (MP)	3339,19999	5,78939	0,877
126 (MP)	3343,94937	10,53877	0,569
127 (MP)	3337,67163	4,26103	0,879
128 (MP)	3337,92196	4,51136	0,833
129 (MP)	3337,67163	4,26103	0,879
130 (MP)	3337,92196	4,51136	0,833
131 (MP)	3337,67163	4,26103	0,879
132 (MP)	3337,92196	4,51136	0,833
133 (MP)	3341,62259	8,21199	0,682
134 (MP)	3341,62259	8,21199	0,682
135 (MP)	3341,62259	8,21199	0,682
136 (MP)	3338,01199	4,60138	0,941
137 (MP)	3338,01199	4,60138	0,941
138 (MP)	3338,01199	4,60138	0,941
139 (MP)	3338,63048	5,21988	0,903
140 (MP)	3338,63048	5,21988	0,903
141 (MP)	3338,63048	5,21988	0,903
142 (MP)	3339,33924	5,92864	0,773
143 (MP)	3339,33924	5,92864	0,773
144 (MP)	3340,86224	7,45164	0,712
145 (MP)	3340,86224	7,45164	0,712
146 (MP)	3340,86224	7,45164	0,712
147 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
148 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
149 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
150 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
151 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
152 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
153 (MP)	3339,33924	5,92864	0,773
154 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
155 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
156 (MP)	3339,89263	6,48203	0,757
157 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
158 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
159 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
160 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
161 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
162 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
163 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
164 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706
165 (MP)	3341,21933	7,80873	0,706



166 (MP)	3340,49890	7,08829	0,722
167 (MP)	3340,49890	7,08829	0,722
168 (MP)	3342,02059	8,60999	0,667
169 (MP)	3342,02059	8,60999	0,667
170 (NJ-JC)	3340,22553	6,81493	0,709
171 (NJ-GTRG)	3344,14126	10,73066	0,531
172 (NJ-LogDet)	3341,87708	8,46647	0,669
173 (ME-JC)	3345,90728	12,49668	0,468
174 (ME-GTRG)	3346,42194	13,01133	0,431
175 (ME-LogDet)	3345,90728	12,49668	0,468

## 7.7. Test de Tajima

Resultados del test de Tajima (métodos 1D y 2D) con el que se evalúa la hipótesis del reloj molecular en *Thymelaea*. Se presentan por separado los resultados obtenidos con cada una de las secuencias utilizadas como grupo externo: *Daphne oleoides* y *Diarrhron (=Stelleropsis) antoninae*. \* rechazo de la hipótesis nula (*i.e.*, no existen diferencias significativas entre las tasas de sustitución de las líneas evolutivas que se comparan) al nivel de significación del 5 %; \*\* rechazo de la hipótesis nula al nivel de significación del 1 %.

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X² 1D	X² 2D
Daphne oleoides	T. virescens	T. pubescens subsp. pubescens	0,43	2,05
Daphne oleoides	T. virescens	T. dioica B	1,13	2,01
Daphne oleoides	T. virescens	T. granatensis A	0,18	0,2
Daphne oleoides	T. virescens	T. calycina	0,62	2
Daphne oleoides	T. virescens	T. ruizii B	3,33	3,97
Daphne oleoides	T. virescens	T. lythroides	0,18	0,22
Daphne oleoides	T. virescens	T. antiatlantica	0,47	0,58
Daphne oleoides	T. virescens	T. argentata	1,29	4,5
Daphne oleoides	T. virescens	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,67	0,8
Daphne oleoides	T. virescens	T. broteriana B	1	1,14
Daphne oleoides	T. microphylla	T. villosa	0	4,44
Daphne oleoides	T. microphylla	T. mesopotamica	0,13	2,29
Daphne oleoides	T. microphylla	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,62	2
Daphne oleoides	T. microphylla	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	1,81	1,94
Daphne oleoides	T. microphylla	T. putorioides	0,43	1,2
Daphne oleoides	T. microphylla	T. pubescens subsp. pubescens	1	1,03
Daphne oleoides	T. microphylla	T. dioica B	0,67	0,8
Daphne oleoides	T. microphylla	T. granatensis A	0,06	0,08
Daphne oleoides	T. microphylla	T. calycina	0,33	3
Daphne oleoides	T. microphylla	T. ruizii B	2,45	3,99
Daphne oleoides	T. microphylla	T. lythroides	0,39	1,09
Daphne oleoides	T. microphylla	T. antiatlantica	0,89	1,14
Daphne oleoides	T. microphylla	T. argentata	1,09	2,78
Daphne oleoides	T. microphylla	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,43	0,45
Daphne oleoides	T. microphylla	T. broteriana B	0,67	1,34
Daphne oleoides	T. villosa	T. mesopotamica	0,12	0,4
Daphne oleoides	T. villosa	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,57	1,43
Daphne oleoides	T. villosa	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	1,4	6,44*
Daphne oleoides	T. villosa	T. putorioides	0,33	2,05
Daphne oleoides	T. villosa	T. pubescens subsp. pubescens	0,89	6,33*
Daphne oleoides	T. villosa	T. dioica B	0,62	5,87
Daphne oleoides	T. villosa	T. granatensis A	0,05	4,33
Daphne oleoides	T. villosa	T. calycina	0,33	0,53
Daphne oleoides	T. villosa	T. ruizii B	2,45	3

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>o</sup> 1D	X <sup>o</sup> 2D
Daphne oleoides	T. villosa	T. lythroides	0,36	2,72
Daphne oleoides	T. villosa	T. antiatlantica	0,73	3,64
Daphne oleoides	T. villosa	T. argentata	0,93	1,67
Daphne oleoides	T. villosa	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,36	4,88
Daphne oleoides	T. villosa	T. broteriana B	0,57	2,3
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. tinctoria subsp. tinctoria	1	1,04
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	1,98	4,17
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. putorioides	0,03	0,71
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. pubescens subsp. pubescens	0,15	4,18
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. dioica B	1,13	4,8
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. granatensis A	0,36	3,6
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. calycina	0,86	0,93
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. ruizii B	3,46	3,48
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. lythroides	0,03	0,71
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. antiatlantica	0,15	1,85
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. argentata	1,81	1,87
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. putorioides	1,81	2,09
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. pubescens subsp. pubescens	2,91	5,53
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. dioica B	0	3,33
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. granatensis A	0,33	2,71
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. calycina	0,03	0,28
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. ruizii B	0,76	0,79
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. lythroides	1,69	2,47
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. antiatlantica	2,46	3,47
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. argentata	0,03	0,38
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,04	1,49
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. broteriana B	0	0,16
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. putorioides	5,56*	8,33*
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. pubescens subsp. pubescens	5,76*	5,76
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. dioica B	0,31	1,04
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. granatensis A	1,64	1,67
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. calycina	0,47	4,46
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. ruizii B	0,12	3,14
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. lythroides	2,94	3,57
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. antiatlantica	4,48*	4,75
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. argentata	0,12	4,4
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,57	0,73
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. broteriana B	0,29	1,59
Daphne oleoides	T. putorioides	T. pubescens subsp. pubescens	0,07	2,08
Daphne oleoides	T. putorioides	T. dioica B	2,13	5,86
Daphne oleoides	T. putorioides	T. granatensis A	1	2,26
Daphne oleoides	T. putorioides	T. calycina	1,29	2,2
Daphne oleoides	T. putorioides	T. ruizii B	4,8	5,11
Daphne oleoides	T. putorioides	T. lythroides	0	0
Daphne oleoides	T. putorioides	T. antiatlantica	0,06	1



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Daphne oleoides	T. putorioides	T. argentata	2,46	3,31
Daphne oleoides	T. putorioides	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,8	2,25
Daphne oleoides	T. putorioides	T. broteriana B	2,13	2,14
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. dioica B	4,57*	5,4
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. granatensis A	2,78	3
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. calycina	2,33	6,07*
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. ruizii B	7,35*	9,25*
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. lythroides	0,05	2,05
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. antiatlantica	0	1,08
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. argentata	4,26*	7,33*
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. coridifolia subsp. coridifolia	3,27	3,92
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. broteriana B	3,56	5,14
Daphne oleoides	T. dioica B	T. granatensis A	0,6	2,14
Daphne oleoides	T. dioica B	T. calycina	0,04	5,7
Daphne oleoides	T. dioica B	T. ruizii B	0,76	5,48
Daphne oleoides	T. dioica B	T. lythroides	1,81	3
Daphne oleoides	T. dioica B	T. antiatlantica	3,2	3,56
Daphne oleoides	T. dioica B	T. argentata	0,04	5,82
Daphne oleoides	T. dioica B	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,05	2,47
Daphne oleoides	T. dioica B	T. broteriana B	0	3,53
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. calycina	0,17	4,1
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. hirsuta	7,35**	9,25**
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. virescens	2,58	4
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. microphylla	3,56	3,57
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. villosa	3,56	6,33*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. mesopotamica	1,5	5,05
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. tinctoria subsp. tinctoria	6,55*	8,25*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	9**	9*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. putorioides	1,32	3,25
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. pubescens subsp. pubescens	2,67	2,8
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. dioica B	9**	9,14*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. granatensis A	6,23*	6,45*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. calycina	5,26*	8*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. ruizii B	11,56**	12,76**
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. lythroides	1,32	3,25
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. antiatlantica	1,33	2,4
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. argentata	8,05**	9,92**
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. coridifolia subsp. coridifolia	6,37*	7*
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. broteriana B	7,2**	8,27*
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. virescens	1,5	2,25
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. microphylla	1	4,56
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. villosa	0,81	1,19
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. mesopotamica	1,58	1,73
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,03	0,11
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0,13	2,29

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X° 1D	X° 2D
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. putorioides	2,46	2,89
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. pubescens subsp. pubescens	3,24	6,47*
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. dioica B	0,03	4,24
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. granatensis A	0,62	3,62
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. calycina	0,13	0,18
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. ruizii B	0,5	0,5
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. lythroides	2,91	3,67
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. antiatlantica	3,86*	4,71
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. argentata	0	0,14
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,17	2,25
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. broteriana B	0,03	0,45
Daphne oleoides	T. virescens	T. microphylla	0,05	0,07
Daphne oleoides	T. virescens	T. villosa	0,04	2,53
Daphne oleoides	T. virescens	T. mesopotamica	0,03	1,36
Daphne oleoides	T. virescens	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,86	1,47
Daphne oleoides	T. virescens	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	1,78	2,13
Daphne oleoides	T. virescens	T. putorioides	0,14	0,17
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,81	2,63
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. broteriana B	1,06	1,38
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0,26	2,38
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. ruizii B	2,46	4,72
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. lythroides	0,73	1,65
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. antiatlantica	2,57	3
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. argentata	0,89	3,66
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,25	0,41
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. broteriana B	0,53	1,08
Daphne oleoides	T. calycina	T. ruizii B	1,8	1,87
Daphne oleoides	T. calycina	T. lythroides	1,38	4,18
Daphne oleoides	T. calycina	T. antiatlantica	2,33	3,27
Daphne oleoides	T. calycina	T. argentata	0,12	0,12
Daphne oleoides	T. calycina	T. coridifolia subsp. coridifolia	0	2,8
Daphne oleoides	T. calycina	T. broteriana B	0,04	0,93
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. lythroides	5,14*	7,13*
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. antiatlantica	6,76*	7,13*
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. argentata	0,5	0,89
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,38	2,84
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. broteriana B	0,86	1,04
Daphne oleoides	T. lythroides	T. antiatlantica	0,07	0,33
Daphne oleoides	T. lythroides	T. argentata	2,46	3,31
Daphne oleoides	T. lythroides	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,8	2,25
Daphne oleoides	T. lythroides	T. broteriana B	2,13	2,14
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. argentata	3,52	5,1
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. coridifolia subsp. coridifolia	2,58	2,58
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. broteriana B	3,56	3,72
Daphne oleoides	T. argentata	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,2	4,26



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Daphne oleoides	T. argentata	T. broteriana B	0,04	1,22
Daphne oleoides	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. broteriana B	0,07	1,09
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. aucheri	0,47	1,33
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. aucheri	3,24	3,98
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. subrepens	9**	10,56**
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. subrepens	0,13	0,18
Daphne oleoides	T. virescens	T. subrepens	2,29	2,8
Daphne oleoides	T. microphylla	T. subrepens	1,58	2,96
Daphne oleoides	T. villosa	T. subrepens	1,58	2,33
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. subrepens	2,45	2,45
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. subrepens	0,29	0,29
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. subrepens	0	2,62
Daphne oleoides	T. putorioides	T. subrepens	3,57	4,09
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. subrepens	5,26*	7,47*
Daphne oleoides	T. dioica B	T. subrepens	0,31	6,39*
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. subrepens	1,09	3,57
Daphne oleoides	T. calycina	T. subrepens	0,89	1,14
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. subrepens	0,33	0,44
Daphne oleoides	T. lythroides	T. subrepens	3,85*	5,64
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. subrepens	5,76*	5,93
Daphne oleoides	T. argentata	T. subrepens	0,13	0,61
Daphne oleoides	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. subrepens	0,62	2
Daphne oleoides	T. broteriana B	T. subrepens	0,31	0,45
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. virgata subsp. broussonetii A	1,33	2,4
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. virgata subsp. broussonetii A	3,86*	4,71
Daphne oleoides	T. virescens	T. virgata subsp. broussonetii A	0,47	0,58
Daphne oleoides	T. microphylla	T. virgata subsp. broussonetii A	1	1,33
Daphne oleoides	T. villosa	T. virgata subsp. broussonetii A	0,8	3,65
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. virgata subsp. broussonetii A	0,17	1,85
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. virgata subsp. broussonetii A	2,67	3,56
Daphne oleoides	T. sanamunda A	T. passerina	9,97**	12,2**
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. passerina	0,4	0,41
Daphne oleoides	T. virescens	T. passerina	3,13	5,17
Daphne oleoides	T. microphylla	T. passerina	2,31	4,62
Daphne oleoides	T. villosa	T. passerina	2,19	2,42
Daphne oleoides	T. mesopotamica	T. passerina	5,26*	5,55
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. passerina	0,68	1,37
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. passerina	0,09	3,47
Daphne oleoides	T. putorioides	T. passerina	4	4,98
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. passerina	5,83*	7,24*
Daphne oleoides	T. dioica B	T. passerina	0,71	4,54
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. passerina	2	5,49
Daphne oleoides	T. calycina	T. passerina	0,95	0,95
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. passerina	0	0,1
Daphne oleoides	T. lythroides	T. passerina	3,6	4,8



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X° 1D	X° 2D
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. passerina	5,45*	6,63*
Daphne oleoides	T. argentata	T. passerina	0,53	0,56
Daphne oleoides	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. passerina	1	3,6
Daphne oleoides	T. broteriana B	T. passerina	0,61	1,37
Daphne oleoides	T. hirsuta	T. aucheri	0,5	1,6
Daphne oleoides	T. virescens	T. aucheri	0,15	0,25
Daphne oleoides	T. microphylla	T. aucheri	0,04	0,55
Daphne oleoides	T. villosa	T. aucheri	0,03	1,55
Daphne oleoides	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. aucheri	0,29	0,45
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. aucheri	0,86	1,6
Daphne oleoides	T. putorioides	T. aucheri	0,5	0,5
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. aucheri	1	2
Daphne oleoides	T. dioica B	T. aucheri	0,26	1,53
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. aucheri	0	0,85
Daphne oleoides	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. virgata subsp. broussonetii A	4,84*	5,2
Daphne oleoides	T. putorioides	T. virgata subsp. broussonetii A	0,07	1
Daphne oleoides	T. pubescens subsp. pubescens	T. virgata subsp. broussonetii A	0	1,09
Daphne oleoides	T. dioica B	T. virgata subsp. broussonetii A	3,2	3,56
Daphne oleoides	T. granatensis A	T. virgata subsp. broussonetii A	3	3,6
Daphne oleoides	T. calycina	T. virgata subsp. broussonetii A	2,58	3,36
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. virgata subsp. broussonetii A	8,05**	8,14*
Daphne oleoides	T. lythroides	T. virgata subsp. broussonetii A	0,06	0,33
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. virgata subsp. broussonetii A	0	0
Daphne oleoides	T. argentata	T. virgata subsp. broussonetii A	3,86*	5,19
Daphne oleoides	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. virgata subsp. broussonetii A	2,88	2,9
Daphne oleoides	T. broteriana B	T. virgata subsp. broussonetii A	3,2	3,47
Daphne oleoides	T. calycina	T. aucheri	0,13	1,05
Daphne oleoides	T. ruizii B	T. aucheri	1,68	1,95
Daphne oleoides	T. lythroides	T. aucheri	0,5	0,5
Daphne oleoides	T. antiatlantica	T. aucheri	0,93	1,1
Daphne oleoides	T. argentata	T. aucheri	0,53	0,87
Daphne oleoides	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. aucheri	0,13	0,53
Daphne oleoides	T. broteriana B	T. aucheri	0,26	0,26
Daphne oleoides	T. passerina	T. aucheri	3,56	4,39
Daphne oleoides	T. passerina	T. subrepens	0,1	0,1
Daphne oleoides	T. passerina	T. virgata subsp. broussonetii A	5,45*	7,08*
Daphne oleoides	T. aucheri	T. subrepens	1	1,5
Daphne oleoides	T. aucheri	T. virgata subsp. broussonetii A	1	1,14
Daphne oleoides	T. subrepens	T. virgata subsp. broussonetii A	7,12**	7,12*

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron antoninae	T. virescens	T. pubescens subsp. pubescens	5,76*	6*
Diarthron antoninae	T. virescens	T. dioica B	1,38	2
Diarthron antoninae	T. virescens	T. granatensis A	4,17*	4,19
Diarthron antoninae	T. virescens	T. calycina	0,04	4,46
Diarthron antoninae	T. virescens	T. ruizii B	0,03	5,69
Diarthron antoninae	T. virescens	T. lythroides	0	0,39
Diarthron antoninae	T. virescens	T. antiatlantica	1,32	1,47
Diarthron antoninae	T. virescens	T. argentata	1,69	4,36
Diarthron antoninae	T. virescens	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,5	2,67
Diarthron antoninae	T. virescens	T. broteriana B	0,67	2,8
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. villosa	0,39	5,1
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. mesopotamica	1,69	3,06
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. tinctoria subsp. tinctoria	1,09	2,73
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	1,38	2,87
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. putorioides	0	1,25
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. pubescens subsp. pubescens	1,67	1,92
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. dioica B	0	0
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. granatensis A	1	2,26
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. calycina	1,96	4,56
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. ruizii B	1,58	5,44
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. lythroides	1,64	1,89
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. antiatlantica	0,06	0,33
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. argentata	0,05	2,43
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. coridifolia subsp. coridifolia	0	1,25
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. broteriana B	0,18	1,86
Diarthron antoninae	T. villosa	T. mesopotamica	0,47	1,9
Diarthron antoninae	T. villosa	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,14	1,3
Diarthron antoninae	T. villosa	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0,26	1,4
Diarthron antoninae	T. villosa	T. putorioides	0,33	2,05
Diarthron antoninae	T. villosa	T. pubescens subsp. pubescens	3,56	6,33*
Diarthron antoninae	T. villosa	T. dioica B	0,39	5,22
Diarthron antoninae	T. villosa	T. granatensis A	2,33	3,27
Diarthron antoninae	T. villosa	T. calycina	0,57	0,89
Diarthron antoninae	T. villosa	T. ruizii B	0,47	0,48
Diarthron antoninae	T. villosa	T. lythroides	0,36	5,25
Diarthron antoninae	T. villosa	T. antiatlantica	0,18	4,17
Diarthron antoninae	T. villosa	T. argentata	0,62	0,88
Diarthron antoninae	T. villosa	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,36	2,06
Diarthron antoninae	T. villosa	T. broteriana B	0,04	1,49
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,12	0,15
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0,03	0,03
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. putorioides	1,81	1,86
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. pubescens subsp. pubescens	6*	7,2*
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. dioica B	1,81	4,39
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. granatensis A	5,26*	5,36



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X° 1D	X° 2D
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. calycina	0	0,7
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. ruizii B	0	1,21
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. lythroides	0,04	0,71
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. antiatlantica	1,5	2,27
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. argentata	2,67	3,38
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. putorioides	1	1,14
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. pubescens subsp. pubescens	5*	6,25*
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. dioica B	1	4,05
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. granatensis A	3,24	3,6
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. calycina	0,13	0,5
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. ruizii B	0,13	1,04
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. lythroides	0,04	1,39
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. antiatlantica	0,67	1,85
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. argentata	1,2	1,8
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. coridifolia subsp. coridifolia	1	1,14
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. broteriana B	0,36	0,37
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. putorioides	2	2
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. pubescens subsp. pubescens	5,76*	6,88*
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. dioica B	1,29	2,19
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. granatensis A	4,55*	4,68
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. calycina	0,03	0,54
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. ruizii B	0,03	1,17
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. lythroides	0	0,81
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. antiatlantica	0,93	1,98
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. argentata	1,48	2,13
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,29	1,39
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. broteriana B	0,53	0,53
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. pubescens subsp. pubescens	1,67	2,69
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. dioica B	0	0,39
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. granatensis A	1	1,03
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. calycina	1,81	2,47
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. ruizii B	1,69	2,98
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. lythroides	1,38	1,64
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. antiatlantica	0,06	1,25
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. argentata	0,04	1,03
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. coridifolia subsp. coridifolia	0	0
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. broteriana B	0,18	0,26
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. dioica B	1,92	2,33
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. granatensis A	0,11	1
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. calycina	7,2**	8,57*
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. ruizii B	6,55*	8,67*
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. lythroides	5,76*	6,26*
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. antiatlantica	2,57	2,92
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. argentata	0,89	2,67
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,67	2,69



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron antoninae	<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	<i>T. broteriana</i> B	2,88	4,14
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. granatensis</i> A	1,14	1,33
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. calycina</i>	1,96	3,14
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. ruizii</i> B	1,58	4,54
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. lythroides</i>	1,5	2,73
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. antiatlantica</i>	0,06	1
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. argentata</i>	0,04	4,14
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	0	0,39
Diarthron antoninae	<i>T. dioica</i> B	<i>T. broteriana</i> B	0,22	0,4
Diarthron antoninae	<i>T. granatensis</i> A	<i>T. calycina</i>	5,26*	5,82
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. hirsuta</i>	4,55*	4,92
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. virescens</i>	2,58	2,88
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. microphylla</i>	0,06	0,62
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. villosa</i>	0,89	2,67
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. mesopotamica</i>	2,91	3,27
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i>	1,8	2,4
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i>	1,96	2,6
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. putorioides</i>	0,05	0,33
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	2,67	2,8
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. dioica</i> B	0,08	1,33
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. granatensis</i> A	0,69	0,82
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. calycina</i>	2,91	4,17
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. ruizii</i> B	2,67	4,75
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. lythroides</i>	2,58	2,58
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. antiatlantica</i>	0,33	0,4
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. argentata</i>	0	1,98
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	0,05	0,33
Diarthron antoninae	<i>T. sanamunda</i> A	<i>T. broteriana</i> B	0,47	1,07
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. virescens</i>	0,39	2,73
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. microphylla</i>	3,24	3,47
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. villosa</i>	1,2	2,44
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. mesopotamica</i>	0,14	0,5
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. tinctoria</i> subsp. <i>tinctoria</i>	0,53	0,53
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. tartonraira</i> subsp. <i>tartonraira</i> var. <i>transiens</i>	0,29	0,36
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. putorioides</i>	3,24	3,29
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. pubescens</i> subsp. <i>pubescens</i>	8,17**	9,26**
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. dioica</i> B	3	5,73
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. granatensis</i> A	6,76**	6,93*
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. calycina</i>	0,14	0,57
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. ruizii</i> B	0,13	1,23
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. lythroides</i>	0,43	1,8
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. antiatlantica</i>	3,2	3,81
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. argentata</i>	3,57	4,86
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. coridifolia</i> subsp. <i>coridifolia</i>	3,52	3,54
Diarthron antoninae	<i>T. hirsuta</i>	<i>T. broteriana</i> B	1,81	1,82

Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron antoninae	T. virescens	T. microphylla	1,8	2
Diarthron antoninae	T. virescens	T. villosa	0,39	7,57*
Diarthron antoninae	T. virescens	T. mesopotamica	0,03	0,2
Diarthron antoninae	T. virescens	T. tinctoria subsp. tinctoria	0,04	2,53
Diarthron antoninae	T. virescens	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0	2,09
Diarthron antoninae	T. virescens	T. putorioides	1,29	2,29
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,69	1,75
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. broteriana B	0,81	0,81
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	0,03	0,04
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. ruizii B	4,84*	5,97
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. lythroides	4,55*	4,6
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. antiatlantica	1,14	1,33
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. argentata	0,53	0,76
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. coridifolia subsp. coridifolia	1	1,03
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. broteriana B	2,25	2,26
Diarthron antoninae	T. calycina	T. ruizii B	0	0,27
Diarthron antoninae	T. calycina	T. lythroides	0,04	4,43
Diarthron antoninae	T. calycina	T. antiatlantica	1,8	2,95
Diarthron antoninae	T. calycina	T. argentata	2	2,13
Diarthron antoninae	T. calycina	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,81	2,47
Diarthron antoninae	T. calycina	T. broteriana B	1	1,25
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. lythroides	0,04	5,73
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. antiatlantica	1,5	3,63
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. argentata	2,13	2,16
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,96	3,03
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. broteriana B	0,93	1,66
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. antiatlantica	1,67	1,67
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. argentata	1,96	5,26
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. coridifolia subsp. coridifolia	1,8	2,25
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. broteriana B	0,73	1,67
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. argentata	0,18	2,95
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,05	0,58
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. broteriana B	0,06	1,08
Diarthron antoninae	T. argentata	T. coridifolia subsp. coridifolia	0,05	1,36
Diarthron antoninae	T. argentata	T. broteriana B	0,36	1,03
Diarthron antoninae	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. broteriana B	0,29	0,42
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. aucheri	0,06	0,62
Diarthron antoninae	T. sanamunda A	T. aucheri	3,24	3,25
Diarthron antoninae	T. sanamunda A	T. subrepens	3,24	5,03
Diarthron antoninae	T. hirsuta	T. subrepens	0,03	0,93
Diarthron antoninae	T. virescens	T. subrepens	0,14	5,3
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. subrepens	2,13	5,49
Diarthron antoninae	T. villosa	T. subrepens	0,76	0,82
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. subrepens	0,03	0,45
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. subrepens	0,29	1



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. subrepens	0,12	1,04
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. subrepens	2,46	2,89
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. subrepens	7,35**	9,25**
Diarthron antoninae	T. dioica B	T. subrepens	2,29	4,7
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. subrepens	5,26*	6,17*
Diarthron antoninae	T. calycina	T. subrepens	0,05	0,2
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. subrepens	0,08	0,11
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. subrepens	0,15	5,43
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. subrepens	2,33	3,86
Diarthron antoninae	T. argentata	T. subrepens	2,79	2,94
Diarthron antoninae	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. subrepens	2,46	3,31
Diarthron antoninae	T. broteriana B	T. subrepens	1,29	1,82
Diarthron antoninae	T. sanamunda A	T. virgata subsp. broussonetii A	0	0
Diarthron antoninae	T. hirsuta	T. virgata subsp. broussonetii A	5*	5,24
Diarthron antoninae	T. virescens	T. virgata subsp. broussonetii A	2,58	2,88
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. virgata subsp. broussonetii A	0,07	0,67
Diarthron antoninae	T. villosa	T. virgata subsp. broussonetii A	0,8	3,65
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. virgata subsp. broussonetii A	2,91	3,27
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. virgata subsp. broussonetii A	1,64	2,33
Diarthron antoninae	T. sanamunda A	T. passerina	0,93	2,05
Diarthron antoninae	T. hirsuta	T. passerina	0,68	0,71
Diarthron antoninae	T. virescens	T. passerina	0,13	1,17
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. passerina	0,5	2,82
Diarthron antoninae	T. villosa	T. passerina	0,03	0,26
Diarthron antoninae	T. mesopotamica	T. passerina	0,47	1,34
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. passerina	0,03	0,04
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. passerina	0,09	0,36
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. passerina	0,47	1,04
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. passerina	3	3,32
Diarthron antoninae	T. dioica B	T. passerina	0,5	3,61
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. passerina	2,13	2,73
Diarthron antoninae	T. calycina	T. passerina	0,26	0,26
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. passerina	0,22	0,32
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. passerina	0,11	1,86
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. passerina	0,31	1,29
Diarthron antoninae	T. argentata	T. passerina	0,93	1
Diarthron antoninae	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. passerina	0,47	1,04
Diarthron antoninae	T. broteriana B	T. passerina	0,11	0,4
Diarthron antoninae	T. hirsuta	T. aucheri	0,03	1,18
Diarthron antoninae	T. virescens	T. aucheri	0,14	0,18
Diarthron antoninae	T. microphylla	T. aucheri	2,46	2,6
Diarthron antoninae	T. villosa	T. aucheri	0,76	3,73
Diarthron antoninae	T. tinctoria subsp. tinctoria	T. aucheri	0,31	0,91
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. aucheri	0,1	0,38
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. aucheri	2	2,1



Gr. externo	Línea 1	Línea 2	X <sup>2</sup> 1D	X <sup>2</sup> 2D
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. aucheri	6,76**	6,8*
Diarthron antoninae	T. dioica B	T. aucheri	2	2,73
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. aucheri	5,14*	5,21
Diarthron antoninae	T. tartonraira subsp. tartonraira var. transiens	T. virgata subsp. broussonetii A	1,96	2,6
Diarthron antoninae	T. putorioides	T. virgata subsp. broussonetii A	0,07	1
Diarthron antoninae	T. pubescens subsp. pubescens	T. virgata subsp. broussonetii A	1,33	1,82
Diarthron antoninae	T. dioica B	T. virgata subsp. broussonetii A	0,06	1,25
Diarthron antoninae	T. granatensis A	T. virgata subsp. broussonetii A	0,33	0,4
Diarthron antoninae	T. calycina	T. virgata subsp. broussonetii A	3,56	4
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. virgata subsp. broussonetii A	3,2	4,26
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. virgata subsp. broussonetii A	2,88	2,9
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. virgata subsp. broussonetii A	1	0
Diarthron antoninae	T. argentata	T. virgata subsp. broussonetii A	0	1,98
Diarthron antoninae	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. virgata subsp. broussonetii A	0,06	0,33
Diarthron antoninae	T. broteriana B	T. virgata subsp. broussonetii A	0,47	1,07
Diarthron antoninae	T. calycina	T. aucheri	0,03	1,8
Diarthron antoninae	T. ruizii B	T. aucheri	0,03	2,33
Diarthron antoninae	T. lythroides	T. aucheri	0,13	0,18
Diarthron antoninae	T. antiatlantica	T. aucheri	1,81	1,86
Diarthron antoninae	T. argentata	T. aucheri	2,79	4,26
Diarthron antoninae	T. coridifolia subsp. coridifolia	T. aucheri	2,13	2,27
Diarthron antoninae	T. broteriana B	T. aucheri	1,06	1,38
Diarthron antoninae	T. passerina	T. aucheri	1	4,27
Diarthron antoninae	T. passerina	T. subrepens	0,42	0,44
Diarthron antoninae	T. passerina	T. virgata subsp. broussonetii A	0,86	2,05
Diarthron antoninae	T. aucheri	T. subrepens	0	1,21
Diarthron antoninae	T. aucheri	T. virgata subsp. broussonetii A	3,24	3,25
Diarthron antoninae	T. subrepens	T. virgata subsp. broussonetii A	4,76*	5,17

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Adanson, M. (1863). *Familles des plantes*. 2 vols. Vincent, Paris.
- Agustí, J. & J. Gibert (1981). Migracions i endemismes de mamífers a la península Ibérica durant el Neogen. *Treballs de la Institució Catalana d'Història Natural* 9: 11-17.
- Agustí, J., L. Cabrera, M. Garcés & M. Llenas (1999). Mammal turnover and global climate change in the late Miocene terrestrial record of the Vallès-Penedès basin (NE Spain). In: J. Agustí, L. Rooks & P. Andrews (eds.). *The evolution of Neogene terrestrial ecosystems in Europe*, pp. 397-412. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Álvarez, W., T. Cocozza & F.C. Wezel (1974). Fragmentation of the Alpine orogenic belt by microplate dispersal. *Nature* 248: 309-314.
- Álvarez, W. (1976). A former continuation of the Alps. *Geological Society of America, Bulletin* 87: 891-896.
- Álvarez, I., J. Fuertes, J.L. Panero & G. Nieto (2001). A phylogenetic analysis of *Doronicum* (Asteraceae, Senecioneae) based on morphological, nuclear ribosomal (ITS), and Chloroplast (trnL-F) evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20 (1): 41-64.
- Anderberg, A.A., I. Trift & M. Källersjö (2000). Phylogeny of *Cyclamen* L. (Primulaceae): Evidence from morphology and sequence data from the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Plant Systematics and Evolution* 220: 147-160.
- Anderson, E. (1949). *Introgressive hybridization*. Wiley, New York.
- APG [Angiosperm Phylogeny Group] (1998). An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85 (4): 531-553.
- Appels, R. & R.L. Honeycutt (1986). rDNA evolution over a billion years. In: S.K. Dutta (ed.). *DNA Systematics*, pp. 81-135. CRC Press, Boca Raton.
- Archie, J.W. (1996). Measures of homoplasy. In: J. Sanderson & L. Hufford (eds.). *Homoplasy. The recurrence of similarity in evolution*, pp. 153-188. Academic Press, San Diego, California.
- Arnheim, N. (1983). Concerted evolution of multigene families. In: M. Nei & R.K. Koehn (eds.). *Evolution of genes and proteins*, pp. 38-61. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Arnheim, N., M. Krystal, R. Schmickel, G. Wilson, O. Ryder & E. Zimmer (1980). Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes on non homologous chromosomes in man and ape.



- Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 77: 7323-7327.
- Arnold, M.L. (1992). Natural hybridization as an evolutionary process. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 237-261.
- Aymonin, G.G. (1971). Chorologie régionale et chorologie générale. Intérêt pour l'étude du polymorphisme: un exemple chez les Thyméléacées méditerranéennes. *Bulletin de la Société Botanique de France* 118: 827-834.
- Aymonin, G.G. (1974). Polymorphisme chez le *Thymelaea tartonraira* (L.) All. et position du "*Passerina*" *thomasi* Duby de la Corse. *Bulletin de la Société Botanique de France* 121 (95 Sess. extr.): 41-43.
- Azzaroli, A. & G. Guazzone (1979). Terrestrial mammals and land connections in the Mediterranean before and during the Messinian. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 29: 155-167.
- Azzaroli, A. (1990). Paleogeography of terrestrial vertebrates in the perityrrhenian area. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 77: 83-90.
- Baldwin, B.G., M.J. Sanderson, J.M. Porter, M.F. Wojciechowski, C.S. Campbell & M.J. Donoghue (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 247-277.
- Barret, M., M.J. Donoghue & E. Sober (1991). Against consensus. *Systematic Zoology* 40: 486-493.
- Barrón, E. (1995). *Estudio tafonómico y análisis paleoecológico de la macro y microflora Miocena de la cuenca de la Cerdaña*. 773 pp. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Barrón, E., M.R. Rivas Carballo & M.E. Valle (1996). Síntesis bibliográfica de la vegetación y clima de la península Ibérica durante el Neógeno. *Revista Española de Paleontología*, núm. extraordinario: 225-236.
- Bateman, R.M. (1999). Integrating molecular and morphological evidence of evolutionary radiations. In: P.M. Hollingsworth, R.M. Bateman & R.J. Gornall (eds.). *Molecular systematics and plant evolution*, pp. 432-472. Taylor & Francis, London.
- Bauhin, C. (1623). *Pinax theatri botanici*. 545 pp. Basileae.
- Baumann, H. (1993). *The Greek plant world in myth, art and literature*. Timber Press. Portland, Oregon.
- Beerli, P., H. Hotz & T. Uzzell (1996). Geologically dated sea barriers cali-

- brate a protein clock for Aegean water frogs. *Evolution* 50 (4): 1676-1687.
- Bell, A.D. (1991). *Plant form. An illustrated guide of flowering plant morphology*. Oxford University Press, Oxford.
- Benammi, M., M. Calvo, M. Prévot & J.J. Jaeger (1996). Magnetostratigraphy and paleontology of Ait Kandoula Basin (High Atlas, Morocco) and the African-European late Miocene terrestrial fauna exchanges. *Earth Planetary Science Letters* 145: 15-29.
- Benda, L. (1973). Late Miocene sporomorph assemblages from the Mediterranean and their possible paleoclimatological implications. In: C.W. Drooger (ed.). *Messinian events in the Mediterranean. Geodynamics Science Report* 7: 256-259.
- Benson, D.A., I. Karsch-Mizrachi, D.J. Lipman, J. Ostell, B.A. Rapp & D.L. Wheeler (2002). GenBank. *Nucleic Acids Research* 30 (1): 17-20.
- Benson, R.H., K. Rakic-El Bied & G. Bonaduce (1991). An important current reversal (influx) in the Rifian Corridor (Morocco) at the Tortonian-Messinian boundary: the end of Tethys ocean. *Paleoceanography* 6 (1): 164-192.
- Bentham, G. & J.D. Hooker (1883). *Genera Plantarum*. Vol. 3. London.
- Berggren, W.A. (1982). Role of the oceans gateways in climatic change. In: W.H. Berggren & J.C. Crowell (eds.). *Climate in earth history*, pp. 43-54. Studies in Geophysics. National Academy of Science Press, Washington D.C.
- Berggren, W.A., D.V. Kent, C.C. Swisner & M.P. Aubry (1995). A revised Cenozoic geochronology and chronostratigraphy. In: W.A. Berggren, D.V. Kent, M.P. Aubry & J. Hardenbol (eds.). *Geochronology, time scales and global stratigraphic correlation*, pp. 129-212. SEPM Special Publication 54. Tulsa, Oklahoma.
- Bertoldi, R., D. Río & R. Thunell (1989). Pliocene Pleistocene vegetational and climatic evolution of South-Central Mediterranean. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 72: 263-275.
- Bessais, E. & J. Cravatte (1988). Les écosystèmes végétaux pliocènes de Catalogne méridionale. Variations latitudinales dans le domaine nord-ouest méditerranéen. *Géobios* 21 (1): 49-63.
- Bizon, G. (1985). Mediterranean foraminiferal changes as related to paleoceanography and paleoclimatology. In: D.J. Stanley & F.C. Wezel (eds.). *Geological evolution of the Mediterranean basin*, pp. 453-

470. Springer, New York.
- Bocquet, G., B. Widler & H. Kiefer (1978). The Messinian Model — A new outlook for the floristics and systematics of the Mediterranean area. *Candollea* 33: 269-287.
- Böhle, U.-R., H. Hilger, R. Cerff & W.F. Martin (1994). Non-coding chloroplast DNA for plant molecular systematics at the infrageneric level. *EXS* 69: 391-403.
- Böhle, U.-R., H.H. Hilger & W.F. Martin (1996). Island colonization and evolution of the insular woody habit in *Echium* L. (*Boraginaceae*). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 11740-11745.
- Borris, R.P., G. Blaskó & G.A. Cordell (1988). Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the *Thymelaeaceae*. *Journal of Ethnopharmacology* 24: 41-91.
- Brecher, G. (1941). A *Thymelaea*-génusz és fajai. *Index Horti Botanici Universitatis Budapestinensis* 5: 57-116.
- Bredenkamp, C.L. & A.E. Van Wyk (1999). Structure of mucilaginous epidermal cell walls in *Passerina* (*Thymelaeaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 223-238.
- Bremer, B., R.K. Jansen, B. Oxelman, M. Backlund, H. Lantz & K.-J. Kim (1999). More characters or more taxa for a robust phylogeny — case study from the coffee family (*Rubiaceae*). *Systematic Biology* 48: 413-435.
- Brochmann, C., T. Nilsson & T.M. Gabrielsen (1996). A classic example of postglacial allopolyploid speciation re-examined using RAPD markers and nucleotide sequences: *Saxifraga osloensis* (*Saxifragaceae*). *Symbolae Botanici Upsalienses* 31: 75-89.
- Browicz, K. (1979). Distribution of woody *Thymelaea* in the eastern Mediterranean region. *Arboretum Kornickie* 24: 5-18.
- Buckley, T.R., C. Simon & G.K. Chambers (2001). Exploring among-site variation models in a maximum likelihood framework using empirical data: Effects of model assumptions on estimates of topology, branch lengths and bootstrap support. *Systematic Biology* 50 (1): 67-86.
- Bull, J.J., J.P. Huelsenbeck, C.W. Cunningham, D.L. Swofford & P.J. Waddell (1993). Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 384-397.
- Busson, G. (1990). Le Messinien de la Méditerranée ... vingt ans après.



- Géologie de la France* 3-4: 3-58.
- Calvo, J.P., E. Elizaga, N. López Martínez, F. Robles & J. Usera (1978). El Mioceno superior continental del Prebético externo: evolución del estrecho nord-bético. *Boletín Geológico y Minero* 89: 9-28.
- Campillo, A.C., A. Maldonado & A. Mauffret (1992). Stratigraphic and tectonic evolution of the Western Alboran sea: Late Miocene to recent. *Geo-Marine Letters* 12: 165-172.
- Cardona, M.A. (1977). Contribució a l'estudi citotaxonòmic de la flora de les Balears, III. *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural* 41: 83-94.
- Cerchio, S. & P. Tucker (1998). Influence of alignment on the mtDNA phylogeny of *Cetacea*: questionable support for a *Mysticeti/Physeteroidea* clade. *Systematic Biology* 47: 336-344.
- Cesmedziev, I.V. (1997). *Thymelaea bulgarica* sp. nova (*Thymelaeaceae*) and related species. *Bocconeae* 5: 607-611.
- Chase, M.W. & H.G. Hillis (1991). Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40: 215-220.
- Chase, M.W., M.F. Fay & V. Savolainen (2000). Higher-level classification in the angiosperms: new insights from the perspective of DNA sequence data. *Taxon* 49: 685-704.
- Chiang, T.Y., K.H. Hong & C.I. Peng (2001). Experimental hibridization reveals biased inheritance of the internal transcribed spacer of the nuclear ribosomal DNA in *Begonia x taipieiensis*. *Journal of Plant Research* 114 (1115): 343-351.
- Chilton, N.B., L.A. Newton, I. Beveridge & R.B. Gasser (2001). Evolutionary relationships of Trichostrongyloid nematodes (Strongylida) inferred from ribosomal DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19 (3): 367-286.
- Clegg, M. (1993). Chloroplast gene sequences and the study of plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 363-367.
- Contandriopoulos, J. (1964). Recherches sur la flore endémique de la Corse et sur ses origines. *Revue Générale de Botanique* 71: 361-384.
- Corner, E.J.H. (1976). *The seeds of Dicotyledons*. Vol. 1. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crane, P.R., E.M. Friis & K.R. Pederson (1995). The origin and early diversification of angiosperms. *Nature* 374: 27-33.

- Crespo, M.B. (1989). *Contribución al estudio florístico, fitosociológico y fitogeográfico de la sierra de Calderona (Valencia-Castellón)*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia, Valencia.
- Cronn, R.C., R.L. Small, T. Haselkorn & J.F. Wendel (2002). Rapid diversification of the cotton genus (*Gossypium*: *Malvaceae*) revealed by analysis of sixteen nuclear and chloroplast genes. *American Journal of Botany* 89 (4): 707-725.
- De Bry, R.W. (1992). The consistency of several phylogeny-inference methods under varying evolutionary rates. *Molecular Biology and Evolution* 9: 537-551.
- Denelle, N. & S. Puech (1985). Etude caryosystematique de *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. (*Thymelaeaceae*) dans deux stations du littoral mediterraneen francais (Camargue et Alberes). *Taxon* 34 (4): 611-616.
- De Pinna, M.C.C. (1991). Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7: 367-394.
- De Queiroz, A. (1993). For consensus (sometimes). *Systematic Biology* 42: 368-372.
- De Queiroz, A., M.J. Donoghue & J. Kim (1995). Separate versus combined analysis of phylogenetic evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics* 26: 657-681.
- De Rijk, P.E. & R. de Wachter (1997). RnaViz, a program for the visualisation of RNA secondary structure. *Nucleic Acids Research* 25 (22): 4679-4684.
- De Rijk, P.E., S. Robrecht, S. de Hoog, A. Caers, Y. van de Peer & R. de Wachter (1999). Database on the structure of large subunit ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research* 27: 174-178.
- Díaz Lifante, Z. (1991). Números cromosómicos para la flora española. 630-642. *Lagascalia* 16: 328-333.
- Ding Hou (1960). *Thymelaeaceae*. In: C.G.G.J. van Steenis (ed.). *Flora Malesiana*, ser. 1, vol. 6, pp. 1-15. Wolter-Noordhoff Publishing, Groningen.
- Diosdado, J.C., F. Ojeda & J. Pastor (1993). In: IOPB chromosome data 5. *International Journal for Plant Biosystematics Newsletter* 20: 6-7.
- Domke, W. (1932). Zur Kenntnis einiger Thymelaeaceen. *Notizblatt des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin* 11: 356-363.
- Domke, W. (1934). Untersuchungen über die systematische und geo-

- graphische Gliederung der Thymelaeaceen nebst einer Neubeschreibung ihrer Gattungen. *Bibliotheca Botanica* 111: 1-151.
- Dommmée, B., N. Denelle & J.L. Bompar (1988). Le genre *Thymelaea* Endl. et plus spécialement l'espèce *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl.: sexualité et distribution géographique. *Actes del Simposi Internacional de Botànica Pius Font i Quer*, pp. 143-147.
- Dommmée, B., A. Biascamano, N. Denelle, J.L. Bompar & J.D. Thompson (1995). Sexual tetramorphism in *Thymelaea hirsuta* (Thymelaeaceae): morph ratios in open-pollinated progeny. *American Journal of Botany* 82 (6): 734-740.
- Donoghue, M.J., J.A. Doyle, J. Gauthier, A.G. Kluge & T. Rowe (1989). The importance of fossils in phylogeny reconstruction. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20: 431-460.
- Donoghue, M.J. & M.J. Sanderson (1992). The suitability of molecular and morphological evidence in reconstructing plant phylogeny. In: P.S. Soltis, D.E. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants*, pp. 340-368. Chapman & Hall, New York.
- Dorofeyev, P.I. (1966). Flora of Hipparion epoch. *International Geology Review* 8 (9): 1109-1117.
- Dover, G. & E. Coen (1981). Springcleaning ribosomal DNA: a model for multigene evolution?. *Nature* 290: 731-732.
- Dover, G. (1982). Molecular drive: a cohesive mode of species evolution. *Nature* 299: 111-117.
- Downie, S.R., D.S. Katz-Downie & K.-J. Cho (1996). Phylogenetic analysis of *Apiaceae* subfamily *Apioideae* using nucleotide sequences from the chloroplast rpoC1 intron. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6: 1-18.
- Dowtow, M. & A.D. Austin (2002). Increased congruence does not necessarily indicate increased phylogenetic accuracy —The behavior of the Incongruence Length Difference Test in mixed-model analyses. *Systematic Biology* 51 (1): 19-31.
- Doyle, J.J. (1991). DNA protocols for plants. In: Hewitt, Johnston & Young (eds.). *Molecular techniques in taxonomy*, pp. 101-115. Springer, Berlin.
- Doyle, J.J. (1992). Gene trees and species trees: molecular systematics as one character taxonomy. *Systematic Botany* 17: 144-163.
- Doyle, J.J. (1996). Homoplasmy connections and disconnections: genes



- and species, molecules and morphology. In: M.J. Sanderson & L. Hufford (eds.). *Homoplasy. The recurrence of similarity in evolution*, pp. 37-66. Academic Press, California.
- El-Ghonemy, A.A., H.K. El-Din & H. El-Razzak (1977). *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. A possible cellulosic raw material for paper pulp industry in Egypt. *Proceedings of the Egyptian Academy of Sciences* 27: 51-66.
- El-Keblawy, A.A., J. Lovett-Doust, L. Lovett-Doust & K.H. Shaltout (1995). Labile sex expression and dynamics of gender in *Thymelaea hirsuta*. *Ecoscience* 2 (1): 55-66.
- El-Keblawy, A.A. & D.C. Freeman (1999). Spatial segregation by gender of the subdioecious shrub *Thymelaea hirsuta* in the Egyptian desert. *International Journal of Plant Sciences* 160 (2): 341-350.
- Endlicher, S.L. (1848). *Genera Plantarum Supplementum* 4 (2). Friedrich Beck, Wien.
- Excoffier, L., P.E. Smouse & J.M. Quattro (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 86: 991-1000.
- Eyre-Walker, A. (1998). Problems with parsimony in sequences of biased base composition. *Journal of Molecular Evolution* 47: 686-690.
- Fairbanks, R.G. (1989). A 17,000-year glacio-eustatic sea level record: Influence of glacial melting rates on the Younger Dryas event and deep-ocean circulation. *Nature* 342: 637-642.
- Farris, J.S. (1969). A successive approximations approach to character weighting. *Systematic Zoology* 18: 374-385.
- Farris, J.S. (1989). The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5: 417-419.
- Farris, J.S. (1991). Excess homoplasy ratios. *Cladistics* 7: 81-91.
- Farris, J.S., M. Källersjö, A.G. Kluge & C. Bult (1995). Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10: 315-319.
- Fasano, A. (1788). *Thymelaeaceae*. *Atti della Reale Accademia delle Scienze e Belle-Lettere di Napoli* 1: 245.
- Fauquette, S., J.P. Suc, J. Guiot, F. Diniz, N. Feddi, Z. Zheng, E. Bessais & A. Drivaliari (1999). Climate and biomes in the West Mediterranean area during the Pliocene. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 152: 15-36.
- Felsenstein, J. (1978). Cases in which parsimony and compatibility

- methods will be positively misleading. *Systematic Zoology* 27: 401-410.
- Felsenstein, J. (1983). Statistical inference of phylogenies. *Journal of the Royal Statistical Society A* 146: 246-272.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fishbein, M., C. Hibsich-Jetter, D.E. Soltis & L. Hufford (2001). Phylogeny of *Saxifragales* (Angiosperms, Eudicots): analysis of a rapid, ancient radiation. *Systematic Biology* 50(6): 817-847.
- Fitch, W.M. (1971). Toward defining the curse of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20: 406-416.
- Fitch, W.M. & J. Ye (1991). Weighed parsimony: does it work?. In: M.M. Miyamoto & J. Cracraft (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*, pp. 147-154. Oxford University Press. New York.
- Font Quer, P. (1985). *Diccionario de Botánica*. Editorial Labor, S.A., Barcelona.
- Freeman, D.C, L. Lovett-Doust, A.A. El-Keblawy, K.J. Meglia & E.M. Mcarthur (1997). Sexual specialization and inbreeding avoidance in the evolution of dioecy. *Botanical Review* 6 (3): 65-92.
- Fuchs, A. (1938). Beiträge zur embryologie der *Thymelaeaceae*. *Österreichische Botanische Zeitschrift* 87: 1-41.
- Galicia Herbada, D. (1995). Distribución del género *Thymelaea* Miller (*Thymelaeaceae*) en la Península Ibérica e islas Baleares. *Candollea* 50 (1): 51-130
- Galtier, N. & M. Gouy (1998). Inferring pattern and process: maximum-likelihood implementation of a nonhomogeneous model of DNA sequence evolution for phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 15(7): 871-879.
- Gaut, B., S.V. Muse, W.D. Clark & M. Cless (1992). Relative rates of nucleotide substitution at the *rbcl* locus of monocotyledonous plants. *Journal of Molecular Evolution* 35: 292-303.
- Gerber, C. (1900). Recherches morphologiques, anatomiques, systématiques et tératologiques sur les *Thymelaea* des environs de Marseille. *Bulletin Scientifique de la France et de la Belgique* 33: 430-454.
- Gielly, L. & P. Taberlet (1994a). Chloroplast DNA polymorphism at the intragenetic level and plant phylogenies. *Comptes Rendus de*

- l'Academie des Sciences, Sciences de la vie* 317: 685-692.
- Gielly, L. & P. Taberlet (1994b). The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcl* sequences. *Molecular Biology and Evolution* 11 (5): 769-777.
- Gielly, L. & P. Taberlet (1996). A phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 120: 57-75.
- Gilg, E.F. (1894). *Thymelaeaceae*. In: A. Engler & K. Prantl. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, III (6A): 237. Leipzig.
- Gilg, E.F. (1921). Über die Phylogenese der *Thymelaeaceae*. *Bericht der Freien Vereinigung für Pflanzengeographie und Systematische Botanik* 1919: 60-68.
- Giribet, G. & W.C. Wheeler (1999). On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13: 132-143.
- Giribet, G. (2001). Exploring the behavior of POY, a program for direct optimization of molecular data. *Cladistics* 17: 60-70.
- Goldman, N. (1993a). Statistical tests of models of DNA substitution. *Journal of Molecular Evolution* 36: 182-198.
- Goldman, N. (1993b). Simple diagnostic statistical tests of models for DNA substitution. *Journal of Molecular Evolution* 37: 650-661.
- Goloboff, P.A. (1991). Homoplasy and the choice among cladograms. *Cladistics* 7: 215-232.
- Goloboff, P.A. (1993). Estimating character weights during tree search. *Cladistics* 9: 83-91.
- González, M.A. & J.A. Elena (1985). Contribución al conocimiento cariológico de los brezales del centro-occidente español. *Studia Botanica* 4: 173-177.
- Graur, D. & W.-H. Li (2000). *Fundamentals of molecular evolution*. 2nd edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Gregor, H.J. (1990). Contributions to the Late Neogene and Early Quaternary floral history of the Mediterranean. *Review of Palaeobotany and Palynology* 62: 309-338.
- Gregory, M. & P. Baas (1989). A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38: 125-174.
- Greuter, W. (1979). The origin and evolution of island floras as exemplified by the Aegean archipelago. In: D. Bramwell (ed.). *Plants and islands*, pp. 87-106. Academic Press, London.
- Guérin, P. (1916). *Reliquiae Treubianae* I. Recherches sur la structure



- anatomique de l'ovule et la graine des Thymeleacées. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg*, Ser. 2, 14: 3-35.
- Gutell, R. (1994). Collection of small subunit (16S- and 16S-like) ribosomal RNA structures: 1994. *Nucleic Acids Research* 22: 3502-3507.
- Hamby, R.K. & E.A. Zimmer (1992). Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics. In: P.S. Soltis, D.E. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants*, pp. 50-91. Chapman & Hall, New York.
- Hasegawa, M. & M. Fujiwara (1993). Relative efficiencies of the maximum likelihood, maximum parsimony, and neighbor-joining methods for estimating protein phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2: 1-5.
- Hasegawa, M., H. Kishino & T. Yano (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 21: 160-174.
- Heads, M.J. (1990). A revision of the genera *Kelleria* and *Drapetes* (Thymelaeaceae). *Australian Systematic Botany* 3 (4): 595-652.
- Hein, J. (1990). Unified approach to alignment and phylogenies. *Methods in Enzymology* 183: 626-644.
- Helfgott, D.M., J. Francisco-Ortega, A. Santos-Guerra, R.K. Jansen & B.B. Simpson (2000). Biogeography and breeding system evolution of the woody *Bencomia* alliance (*Rosaceae*) in Macaronesia based on ITS sequence data. *Systematic Botany* 25 (1): 82-97.
- Hennig, W. (1966). *Phylogenetic systematics*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois.
- Herber, B.E. (2002). Pollen morphology of the *Thymelaeaceae* in relation to its taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* 232: 107-121.
- Hershkovitz, M.A. & E.A. Zimmer (1996). Conservation patterns in angiosperm rDNA ITS2 sequences. *Nucleic Acids Research* 24 (15): 2857-2867.
- Hershkovitz, M.A., E.A. Zimmer & W.J. Hahn (1999). Ribosomal DNA sequences and angiosperm systematics. In: P.M. Hollingsworth, R.M. Bateman & R.J. Gornall (eds.). *Molecular systematics and plant evolution*, pp. 268-326. Taylor & Francis, London.
- Hickson, R.E., C. Simon, A.C. Cooper, G.S. Spicer, J. Sullivan & D. Penny (1996). Conserved sequence motifs, alignment, and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA. *Molecular*

- Biology and Evolution* 13: 150-169.
- Hickson, R.E., C. Simon & S.W. Perrey (2000). The performance of several multiple-sequence alignment programs in relation to secondary-structure features for an rRNA sequence. *Molecular Biology and Evolution* 17 (4): 530-539.
- Hillis, D.M. & S.K. Davis (1988). Ribosomal DNA: Intraspecific polymorphism, concerted evolution, and phylogeny reconstruction. *Systematic Zoology* 37: 63-66.
- Hillis, D.M. & M.T. Dixon (1991). Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology* 66 (4): 411-453.
- Hillis, D.M. & J.P. Huelsenbeck (1992). Signal, noise and reliability in molecular phylogenetic analyses. *Journal of Heredity* 83: 189-195.
- Hillis, D.M. & J.J. Bull (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 182-192.
- Hillis, D.M., B.K. Mable & C. Moritz (1996). Applications of molecular systematics: the state of the field and a look to the future. In: D.M. Hillis, C. Moritz & B.K. Mable (eds.). *Molecular Systematics*, pp 515-543. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Hillis, D.M., J.P. Huelsenbeck & C.W. Cunningham (1994). Application and accuracy of molecular phylogenies. *Science* 264: 671-677.
- Hoelzer, G.A. & D.J. Melnick (1994). Patterns of speciation and limits of phylogenetic resolution. *Trends in Ecology and Evolution* 9 (3): 104-107.
- Hsü, K.J., L. Montadert, D. Bernoulli, M.B. Cita, A. Erickson, R.E. Garrison, R.B. Kidd, F. Mèlières, C. Müller & R. Wright (1977). History of the Mediterranean salinity crisis. *Nature* 267: 399-403.
- Hsü, K.J., W.B.F. Ryan & M.B. Cita (1973). Late Miocene dessication of the Mediterranean. *Nature* 242: 240-244.
- Huelsenbeck, J.P. (1995). Performance of phylogenetic methods in simulation. *Systematic Biology* 44: 17-48.
- Huelsenbeck, J.P., J.J. Bull & C.W. Cunningham (1996). Combining data in phylogenetic analysis. *Trends in Ecology and Evolution* 11 (4): 152-158.
- Huelsenbeck, J.P. & B. Rannala (1997). Phylogenetic methods come of age: testing hypothesis in an evolutionary context. *Science* 276:

227-232.

- Huelsenbeck, J.P., F. Ronquist, R. Nielsen & J.P. Bollback (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294: 2310-2314.
- Hughes, N.F. (1994). *The enigma of angiosperm origins*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jackman, T.R., A. Larson, K. De Quieroz & J.B. Losos (1999). Phylogenetic relationships and tempo of early diversification in *Anolis* lizards. *Systematic Biology* 48 (2): 254-285.
- Jansen, R.K., J.L. Wee & D. Millie (1998). Comparative utility of chloroplast DNA restriction site and DNA sequence data for phylogenetic studies in plants. In: D.E. Soltis, P.S. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants, II. DNA sequencing*, pp. 88-100. Chapman & Hall, New York.
- Javurková-Jarolímová, V. (1992). In: J. Mésíček & V. Javurková-Jarolímová. *List of chromosome numbers of the Czech vascular plants*. Academia, Praha.
- Jeanmonod, D. & G. Bocquet (1981). Remarques sur la distribution de *Silene mollissima* (L.) Pers. et des espèces affines en Méditerranée occidentale. *Candollea* 36: 279-287.
- Joel, D.M. (1983). A.G.S. (Alcian Green Safranin), a simple differential staining of plant material for light microscopy. *Proceedings of the Royal Microscopical Society* 18 (3): 149-151.
- Johnson, L.A. & D.E. Soltis (1998). Assessing congruence: empirical examples from molecular data. In: D.E. Soltis, P.S. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants, II. DNA sequencing*, pp. 297-343. Chapman & Hall, New York.
- Jorgensen, R.A. & P.D. Cluster (1988). Modes and tempos in the evolution of nuclear ribosomal DNA: new characters for evolutionary studies and new makers for genetic and population studies. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 1238-1247.
- Jukes, T.H. & C.R. Cantor (1969). Evolution of protein molecules. In: H.N. Munro (ed.). *Mammalian protein metabolism*, pp. 21-132. Academic Press, New York.
- Kadereit, J.W. (1994). Molecules and morphology, phylogenetics and genetics. *Botanica Acta* 107: 369-373.
- Keigwin, L.D. & R.C. Thunell (1979). Middle Pliocene climatic change in western Mediterranean from faunal and oxygen isotopic trends.



- Nature* 282: 294-296.
- Kelchner, S.A. & L.G. Clark, (1997). Molecular evolution and phylogenetic utility of the chloroplast *rpl16* intron in *Chusquea* and the *Bambusoideae* (*Poaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8: 385-397.
- Kennett, J.P. (1995). A review of polar climatic evolution during the Neogene, based on the marine sediment record. In: E. Vrba, G.H. Denton, T.C. Partridge & L.H. Burckle (eds.). *Paleoclimate and evolution – with emphasis on human origins*, pp. 49-64. Yale Univ. Press, New Haven.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Kishino, H. & M. Hasegawa (1989). Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data and the branching order in *Hominoidea*. *Journal of Molecular Evolution* 29: 170-179.
- Kishino, H., T. Miyata & M. Hasegawa (1990). Maximum likelihood inference of protein phylogeny and the origin of chloroplasts. *Journal of Molecular Evolution* 31: 151-160.
- Kitching, I.J. (1992). Tree-building techniques. In: P.L. Forey, C.J. Humphries, I.L. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Siebert & D.M. Williams. *Cladistics. A practical course in systematics*, pp 44-72. The Systematic Association. Oxford Science Publications, Oxford.
- Kjer, K.M. (1995). Use of rRNA secondary structure in phylogenetic studies to identify homologous positions: an example of alignment and data presentation from the frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4 (3): 314-330.
- Kluge, A.G. & J.S. Farris (1969). Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* 18: 1-32.
- Kluge, A.G. (1989). A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (*Boidea*, *Serpentes*). *Systematic Zoology* 38: 7-25.
- Kluge, A.G. & A.J. Wolf (1993). Cladistics: what's in a word?. *Cladistics* 9: 183-199.
- Krijgsman, W., C.G. Langereis, W.J. Zachariasse, M. Boccaletti, G. Moratti, R. Gelati, S. Iaccarino, G. Papani & G. Villa (1999a). Late Neogene evolution of the Taza-Guercif basin (Rifian Corridor,

- Morocco) and implications for the Messinian salinity crisis. *Marine Geology* 153: 147-160.
- Krijgsman, W., F.J. Hilgen, I. Raffi, F.J. Sierro & D.S. Wilson (1999b). Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature* 400: 652-655.
- Krijgsman, W. & C.G. Langereis (2000). Magnetostratigraphy of the Zobzit and Koudiat Zarga sections (Taza-Guercif basin, Morocco): implications for the evolution of the Rifian Corridor. *Marine and Petroleum Geology* 17: 359-371.
- Krutzsch, W. (1966). Zur Kenntnis der präquartären periporaten Pollenformen. *Geologie* 15: 16-71.
- Kubicka, E., G. Kubicki & F.R. McMorris (1995). An algorithm to find agreement subtrees. *Journal of Classification* 12: 91-101.
- Kuhner M.K. & J. Felsenstein (1994). A simulation comparison of phylogeny algorithms under equal and unequal evolutionary rates. *Molecular Biology and Evolution* 11 (3): 459-468.
- Kumar, S. & S.R. Gadagkar (2001). Disparity index: a simple statistic to measure and test the homogeneity of substitution patterns between molecular sequences. *Genetics* 158: 1321-1327.
- Kumar, S., K. Tamura, I.B. Jacobsen & M. Nei (2001). *MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software*. Arizona State University, Tempe, Arizona.
- Kupchan, S.M. & R.L. Baxter (1975). Mezerein: anti-leukemic principle isolated from *Daphne mezereum* L. *Science* 187: 652-653.
- Kuzmanov, B.A. (1973). In: A. Love (ed.). IOBP chromosome number reports, XLII. *Taxon* 22: 647-654.
- Kuzmanov, B.A., P.D. Jurukova-Grancarova & S.B. Georgieva (1992). Karyological study of Bulgarian angiosperms. *Fitologiya* 42: 73-77.
- Lanave, C., G. Preparata, C. Saccone & G. Serio (1984). A. New method for calculating evolutionary substitution rates. *Journal of Molecular Evolution* 20: 86-93.
- Lanza, B. & S. Vanni (1990). Notes on the biogeography of the Mediterranean islands amphibians. *Atti dei Convegni Lincei* 85: 335-344.
- Lapitan, N.I.V. (1992). Organization and evolution of higher plant nuclear genomes. *Genome* 35: 171-181.
- Leandri, J. (1930). Recherches anatomiques sur les thyméléacées. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique* 12 (9): 125-237.

- Lecomte, H.M. (1914). Sur les graines des Thyméléacées. *Bulletin de la Société Botanique de France* 61: 410-418.
- Li, W-H. (1993). So, what about the molecular clock hypothesis?. *Current Opinion in Genetics and Development* 3: 896-901.
- Linneo, C. (1753). *Species plantarum*. Facsimile edition, 1959. 2 vols. Ray Society, London.
- Lockhart, P.J., M.A. Steel, M.D. Hendy & D. Penny (1994). Recovering evolutionary trees under a more realistic model of sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution* 11: 605-612.
- Lockhart, P.J., A.W.D. Larkum, M.A. Steel, P.J. Waddell & D. Penny (1996). Evolution of chlorophyll and bacteriochlorophyll: the problem of invariant sites in sequence analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 1930-1934.
- López Martínez, N. (1989). Tendencias en Paleobiogeografía. El futuro de la biogeografía del pasado. In: E. Aguirre (coord.). *Paleontología*, pp. 271-296. Nuevas tendencias. C.S.I.C., Madrid.
- Lutzoni, F. P. Wagner, V. Reeb & S. Zoller (2000). Integrating ambiguously aligned regions of DNA sequences in phylogenetic analyses without violating positional homology. *Systematic Biology* 49 (4): 628-651.
- Maddison, W.P. (1989). Reconstructing character evolution on polytomous cladograms. *Cladistics* 5: 365-377.
- Maddison, D.R. (1991). The discovery and importance of multiple islands of most parsimonious trees. *Systematic Zoology* 40: 315-328.
- Maddison, W.P. (1993). Missing data versus missing characters in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 576-581.
- Maddison, W.P. & D.R. Maddison (1995). *MacClade: Analysis of phylogenetic and character evolution*, v. 3.08a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Mai, D.H. (1989). Development and regional differentiation of the European vegetation during the Tertiary. *Plant Systematics and Evolution* 162: 79-91.
- Mai, J.C. & A.W. Coleman (1997). The internal transcribed spacer 2 exhibits a common secondary structure in green algae and flowering plants. *Journal of Molecular Evolution* 44: 258-271.
- Majovsky, J. (ed.) (1974). Index of chromosome numbers of Slovakian flora, 1. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae, Botanica* 23: 1-23.
- Malay, J. (1980). Les changements climatiques de la fin du Tertiaire en



- Africa: leur consequence sur l'apparition du Sahara et de sa végétation. In: M.A. Williams & H. Faure (eds.). *The Sahara and the Nile*, pp. 63-86. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Manen, J.-F. & A. Natali (1995). Comparison of the evolution of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase (rbcL) and atpB-rbcL noncoding spacer sequences in a recent plant group, the tribe *Rubieae* (Rubiaceae). *Journal of Molecular Evolution* 41: 920-927.
- Martin, J.M., J.C. Braga & I. Sánchez Almazo (1999). The Messinian record of the outcropping marginal Alboran basin deposits: significance and implications. In: R. Zahn, M.C. Comas & A. Klaus (eds.). *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, vol. 161, pp. 543-551.
- Mason-Gamer, R.J., K.E. Holsinger & R.K. Jansen (1995). Chloroplast DNA haplotype variation within and among populations of *Coreopsis grandiflora* (Asteraceae). *Molecular Biology and Evolution* 12: 371-381.
- Mason-Gamer, R.J. & E.A. Kellogg (1996). Testing for phylogenetic conflict among molecular data sets in the tribe *Triticeae* (Gramineae). *Systematic Biology* 45 (4): 524-545.
- Mathews, D.H., D.H. Turner, & M. Zuker (2000). RNA Secondary Structure Prediction. In: S. Beaucage, D.E. Bergstrom, G.D. Glick, and R.A. Jones (eds.). *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, 11.2.1-11.2.10. John Wiley & Sons, New York.
- McDade, L.A. & M.L. Moody (1999). Phylogenetic relationships among *Acanthaceae*: evidence from noncoding trnL-trnF chloroplast DNA sequences. *American Journal of Botany* 86: 70-80.
- Médail, F. & A. Aboucaya (1993). *Thymelaea x conradiae* Aboucaya & Médail (*T. hirsuta* (L.) Endl. x *T. tartonraira* (L.) All. subsp. *tartonraira*), hybride nouveau découvert en Corse. *Candollea* 48: 576-581.
- Medus, J. & A. Pons (1980). Les prédécesseurs des végétaux méditerranéens actuels jusqu'au début du Miocène. *Naturalia Monspeliensia*, n° hors série: 11-20.
- Meghraoui, M., J.L. Morel, J. Andrieux & M. Dahmani (1996). Tectonique plio-quadernaire de la chaîne tello-rifaine et de la mer d'Alboran. Une zone complexe de convergence continent-continent. *Bulletin de la Société Géologique de France* 167: 141-157.
- Meissner, C.F. (1857). *Thymelaeaceae*. In: A.P. de Candolle (1824-

- 1873]. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, t. 14, pp. 551-558. Paris.
- Méon, H., R. Ballesio, C. Guérin & P. Mein (1979). Approche climatologique du Néogène supérieur (Tortonien à Pléistocène moyen ancien) d'après les faunes et les flores d'Europe occidentale. *Mémoires du Muséum Nationale d'Histoire Naturelle, Paris*, Sér. B, 27: 182-195.
- Meyer, C.A. (1843). Bemerkungen über die Gattungen der Daphnaceen. *Bulletin de la Classe Physico-Mathématique de l'Académie Impériale des Sciences de Saint Pétersbourg* 1: 353-359.
- Mickevich, M.F. (1978). Taxonomic congruence. *Systematic Zoology* 27: 143-158.
- Mickevich, M.F. & J.S. Farris. (1981). The implications of congruence in *Medinia*. *Systematic Zoology* 30: 351-370.
- Miller, P. (1754). *The gardeners dictionary*. 4th ed. London.
- Miyamoto, M.M. & J. Cracraft (1991). Phylogenetic inference, DNA sequence analysis, and the future of molecular systematics. In: M.M. Miyamoto & J. Cracraft (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*, pp. 3-17. Oxford University Press, New York.
- Miyamoto, M.M. & W.M. Fitch (1995). Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. *Systematic Biology* 44: 64-76.
- Morrison, D.A. & J.T. Ellis (1997). Effects of nucleotide sequence alignment on phylogeny estimation: a case study of 18S rDNAs of Apicomplexa. *Molecular Biology and Evolution* 14: 428-441.
- Mort, M.E., P.S. Soltis, D.E. Soltis & M.L. Mabry (2000). Comparison of three methods for estimating internal support on phylogenetic trees. *Systematic Biology* 49: 160-171.
- Mugridge, N.B., D.A. Morrison, T. Jäkel, A.R. Heckerroth, A.M. Tenter & A.M. Johnson (2000). Effects of sequence alignment and structural domains of ribosomal DNA on phylogeny reconstruction for the protozoan family *Sarcocystidae*. *Molecular Biology and Evolution* 17 (12): 1842-1853.
- Muller, J. (1981). Fossil pollen records of extant angiosperms. *Botanical Review* 43: 1-142.
- Muse, S.V. & B.S. Weir (1992). Testing for equality of evolutionary rates. *Genetics* 132: 269-276.
- Necker, N.J. de (1791). *Elementa botanica*. Vol. 2. Neuwied.

- Needleman, S.B. & C.D. Wunsch (1970). A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of Molecular Biology* 48: 443-453.
- Nei, M, S. Kumar & K. Takahashi (1998). The optimization principle in phylogenetic analysis tends to give incorrect topologies when the number of nucleotides or amino acids used is small. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 12390-12397.
- Nei, M. & S. Kumar (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. New York.
- Netolitzky, F. (1926). Anatomie der Angiospermen-Samen. In: K. Linsbauer (ed.), *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Vol. 10. Berlin.
- Nieto, G. (1997). *Daphne* L. In: S. Castroviejo & al. (eds.). *Flora Iberica*, Vol. VIII, pp. 33-42. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Nitsche, W. (1907). *Beiträge zur Kenntnis der Gattung Daphne*. Tesis Doctoral. Universidad de Breslau, Breslau.
- Olmstead, R.G. (1989). Phylogeny, phenotypic evolution and biogeography of the *Scutellaria angustifolia* complex (Lamiaceae): inference from morphological and molecular data. *Systematic Botany* 14: 320-338.
- Olmstead, R.G. & J.D. Palmer (1994). Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data analysis. *American Journal of Botany* 81 (9): 1205-1224.
- Page, R.D.M. & E.C. Holmes (1998). *Molecular evolution. A phylogenetic approach*. Blackwell Science Ltd, Malden, Massachusetts.
- Palamarev, E. (1989). Paleobotanical evidences of the Tertiary history and origin of the Mediterranean sclerophyll dendroflora. *Plant Systematics and Evolution* 162: 93-107.
- Palmer, J.D., R.K. Jansen, H.J. Michaels, M.W. Chase & J.R. Manhart (1988). Chloroplast DNA variation and plant phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 1180-1206.
- Palmer, M. & Y. Cambefort (2000). Evidence for reticulate palaeogeography: beetle diversity linked to connection-disjunction cycles of the Gibraltar strait. *Journal of Biogeography* 27: 403-416.
- Patterson, C. (1988). Homology in classical and molecular biology. *Molecular Biology and Evolution* 5: 603-625.
- Pedrol, J. (1997). *Thymelaea* Mill. In: S. Castroviejo & al. (eds.). *Flora Iberica*, Vol. VIII, pp. 42-69. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Penny, D. & M.D. Hendy (1985). The use of tree comparison metrics.



*Systematic Zoology* 34: 75-82.

- Peterson, B. (1959). Some interesting species of *Gnidia*. *Botaniska Notiser* 112 (4): 465-480.
- Platnick, N.I., C.E. Griswold & J.A. Coddington (1991). On missing entries in cladistic analysis. *Cladistics* 7: 337-343.
- Pokras, E.M. & A.C. Mix (1987). Earth's precession cycle and quaternary climatic change in tropical Africa. *Nature* 326: 486-487.
- Quer, J. (1762-1784). *Flora Española*. 6 vols. Madrid.
- Rafinesque-Schmaltz, C.S. (1840). *Autikon botanikon*. Philadelphia.
- Reese, G. (1957). Über die Polyploidiespektren in der nord-saharischen Wüstenflora. *Flora* 144: 598-634.
- Rieseberg, L.H. & D.E. Soltis (1991). Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants. *Evolutionary Trends in Plants* 5: 65-84.
- Rieseberg, L.H. & S.J. Brunsfeld (1992). Molecular evidence and plant introgression. In: P.S. Soltis, D.E. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants*, pp. 151-176. Chapman & Hall, New York.
- Rieseberg, L.H. & J.F. Wendel (1993). Introgression and its consequences in plants. In: R.G. Harrison (ed.). *Hybrid zones and the evolutionary process*, pp. 70-109. Oxford Univ. Press, Oxford, London.
- Rieseberg, L.H., C.V. Fossen & A.M. Desrochers (1995). Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature* 375: 313-316.
- Ritland, C.E., K. Ritland & N.A. Straus (1993). Variation in the ribosomal internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) among eight taxa of the *Mimulus guttatus* species complex. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1273-1288.
- Rivera Núñez, D. & C. Obón de Castro (1991). *La guía de Incafo de las plantas útiles y venenosas de la península Ibérica y Baleares (excluidas medicinales)*. Ed. Incafo. Madrid.
- Robinson, D.F. & L.R. Foulds (1981). Comparison of phylogenetic trees. *Mathematical Biosciences* 53: 131-147.
- Rodríguez, F., J.L. Oliver, A. Marín & J.R. Medina (1990). The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology* 142: 485-501.
- Rodríguez, Fernández, J. & C. Sanz de Galdeano (1992). Onshore Neogene stratigraphy in the north of the Alboran sea (Betic

- Internal Zones): paleogeographic implications. *Geo-Marine Letters* 12: 123-128.
- Rögl, F. (1998). Palaeogeographic considerations for Mediterranean and Paratethys seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 99A: 279-310.
- Rohlf, F.J., W.S. Chang, R.R. Sokal & J. Kim (1990). Accuracy of estimated phylogenies: effects of tree topology and evolutionary model. *Evolution* 44: 1671-1684.
- Rothmaler, W. (1935). Plantae novae vel criticae Peninsulae Ibericae. *Cavanillesia* 7: 111-121.
- Rzhetsky, A. & M. Nei (1992). A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution* 9: 945-967.
- Rzhetsky, A. & M. Nei (1995). Test of applicability of several substitution models for DNA sequence data. *Molecular Biology and Evolution* 12 (1): 131-151.
- Saghai-Maroofo, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgesen & R.W. Allard (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 81: 8014-8018.
- Saitou, N. & M. Nei (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Saitou, N. & T. Imanishi (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Molecular Biology and Evolution* 6 (5): 514-525.
- Saleh, M.R.I. & T.M. Sarg (1965). Macro and micromorphology of the stems and leaves of *Thymelaea hirsuta* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences, U.A.R.* 6: 147-162.
- Sanderson, M.J. (1998). Estimating rate and time in molecular phylogenies: Beyond the molecular clock?. In: D.E. Soltis, P.S. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants, II: DNA sequencing*, pp. 242-264. Chapman & Hall, New York.
- Sang, T., D.J. Crawford & T.F. Stuessy (1995). Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spa-

- cer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 6813-6817.
- Sang, T., D.J. Crawford & T.F. Stuessy (1997). Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution and biogeography of *Paeonia* (*Paeoniaceae*). *American Journal of Botany* 84: 1120-1136.
- Sanger, F., S. Nicklen & A.R. Coulson (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 74: 5463-5467.
- Sanz de Galdeano, C. (1990). Geologic evolution of the Betic Cordilleras in the Western Mediterranean, Miocene to present. *Tectonophysics* 172: 107-119.
- Sanz de Galdeano, C. & J.A. Vera (1991). Una propuesta de clasificación de las cuencas neógenas béticas. *Acta Geológica Hispanica* 26 (3-4): 205-227.
- Schmidt, G. & E.E. Schilling (2000). Phylogeny and biogeography of *Eupatorium* (*Asteraceae*: *Eupatorieae*) based on nuclear ITS sequence data. *American Journal of Botany* 87 (5): 716-726.
- Schmidt, J. & N. Stavisky (1983). Uses of *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. with emphasis on hand papermaking. *Economic Botany* 37: 310-321.
- Seelanan, T., A. Schnabel & J.F. Wendel (1997). Congruence and consensus in the cotton tribe (*Malvaceae*). *Systematic Botany* 22 (2): 259-290.
- Shaltout, K.H. & M.A. Ayyad (1988). Structure and standing crop of Egyptian *Thymelaea hirsuta* populations. *Vegetatio* 74: 137-142.
- Shimodaira, H. & M. Hasegawa (1999). Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1114-1116.
- Siegel, S. (1956). *Non parametric statistics for the behavioral sciences*. McGraw-Hill, New York.
- Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu & P. Flook (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87 (6): 651-701.
- Simpson, G.G. (1952). Probabilities of dispersal in geologic time. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 99: 163-176.



- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787-792.
- Small, R.L., J.A. Ryburn, R.C. Cronn, T. Seelanan & J.F. Wendel (1998). The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear ADH sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group. *American Journal of Botany* 85 (9): 1301-1315.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf (1981). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. Second edition. W.H. Freeman & Co., New York.
- Soltis, D.E. & P.S. Soltis (1998). Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. In: D.E. Soltis, P.S. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants, II. DNA sequencing*, pp. 1-42. Chapman & Hall, New York.
- Soltis, P.S., D.E. Soltis, V. Savolainen, P.R. Crane & T.G. Barraclough (2002). Rate heterogeneity among lineages of tracheophytes: integration of molecular and fossil data and evidence for molecular living fossils. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99 (7): 4430-4435.
- Sorhannus, U. & C. Van Bell (1999). Testing for equality of molecular evolutionary rates: a comparison between a relative-rate test and a likelihood ratio test. *Molecular Biology and Evolution* 16 (6): 849-855.
- Soria, J.M., J. Fernández & C. Viseras (1999). Late Miocene stratigraphy and palaeographic evolution of the intramontane Guadix Basin (Central Betic Cordillera, Spain): implications for an Atlantic-Mediterranean connection. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 151: 255-266.
- Stanley, D.J. (1990). Med desert theory is drying up. *Oceanus* 33: 16-23.
- Steel, M.A., P.J. Lockhart & D. Penny (1993). Confidence in evolutionary trees from biological sequence data. *Nature* 364: 440-442.
- Steininger, F.F., G. Rabeder & F. Rögl (1985). Land mammal distribution in the Mediterranean Neogene: a consequence of geokinematic and climatic events. In: D.J. Stanley & F.C. Wezel (eds.). *Geological evolution of the Mediterranean basin*, pp. 559-571. Springer, New York.
- Stoesser, G., W. Baker, A. van den Broek, M. García-Pastor, C. Kanz, T.

- Kulikova, R. Leinonen, Q. Lin, V. Lombard, R. López, R. Mancuso, F. Nardone, P. Stoehr, M.A. Tuli, K. Tzouvara & R. Vaughan (2003). The EMBL Nucleotide Sequence Database: major new developments. *Nucleic Acids Research* 31 (1): 17-22.
- Suc, J.P. (1982). Palynostratigraphie et paléoclimatologie du Pliocène et du Pléistocène inférieur en Méditerranée nord-occidentale. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Sciences de la vie* 294: 1003-1008.
- Suc, J.P. (1984). Origin and evolution of the Mediterranean vegetation and climate in Europe. *Nature* 307: 429-432.
- Suc, J.P. (1986). Flore néogènes de Méditerranée occidentale. Climate et paléogéographie. *Bulletin des Centres de Recherches Exploration-Production Elf-Aquitaine* 10 (2): 477-488.
- Suc, J.P., G. Clauzon, M. Bessedik, S. Leroy, Z. Zheng, A. Drivaliari, P. Roiron, P. Ambert, J. Martinell, R. Domenech, I. Matías, R. Julià & R. Anglada (1992). Neogene and Lower Pleistocene in Southern France and Northeastern Spain. Mediterranean environments and climate. *Cahiers de Micropaléontologie* 7 (1/2): 165-186.
- Suc, J.P., F. Diniz, S. Leroy, C. Poumot, A. Bertini, L. Dupont, M. Clet, E. Bessais, Z. Zheng, S. Fauquette & J. Ferrier (1995). Zanclean (~Brunssumian) to early Piacenzian (~early-middle Reuverian) climate from 4° to 54° north latitude (West Africa, West Europe and West Mediterranean areas). *Mededeelingen van's Rijks Geologische Dienst* 52: 43-56.
- Suc, J.P., S. Fauquette, M. Bessedik, A. Bertini, Z. Zheng, G. Clauzon, F. Diniz, P. Quézel, N. Feddi, M. Clet, E. Bessais, N. Bachiri, H. Méon & N. Combarieu-Nebout (1999). Neogene vegetation changes in West European and West circummediterranean areas. In: J. Agustí, L. Rook & P. Andrews (eds.). *The evolution of Neogene terrestrial ecosystems in Europe*, pp. 378-388. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Suh, Y., L.B. Thien, H.E. Reeve & E.A. Zimmer (1993). Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA in *Winteraceae*. *American Journal of Botany* 80: 1042-1055.
- Sullivan, J., K.E. Holsinger & C. Simon (1996). The effect of topology on estimates of among-site rate variation. *Journal of Molecular Evolution* 42: 308-312.

- Swofford, D.L. & W.P. Maddison (1987). Reconstructing ancestral character states under Wagner parsimony. *Mathematical Biosciences* 87: 199-229.
- Swofford, D. (1991). When are phylogeny estimates from molecular and morphological data incongruent?. In: M.M. Miyamoto & J. Cracraft (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*, pp. 295-333. Oxford Univ. Press, New York.
- Swofford, D.L., G.J. Olsen, P.J. Waddell & D.M. Hillis (1996). Phylogenetic inference. In: D.M. Hillis, C. Moritz & B.K. Mable (eds.). *Molecular Systematics*, pp. 407-514. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Swofford, D.L. (2001). *PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and other Methods)*. Version 4.0b6. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Sytsma, K.J. (1990). DNA and morphology: inference of plant phylogeny. *Trends in Ecology and Evolution* 5: 104-110.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou & J. Bouvet (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- Tajima, F. (1993). Simple methods for testing the molecular evolutionary clock hypothesis. *Genetics* 135: 599-607.
- Takahashi, K. & M. Nei (2000). Efficiencies of fast algorithms of phylogenetic inference under the criteria of maximum parsimony, minimum evolution and maximum likelihood when a large number of sequences are used. *Molecular Biology and Evolution* 17 (8): 1251-1258.
- Takhtajan, A. (1992). *Anatomia seminum comparativa*. 2. Petropolis, Nauka Sectio Petropoli.
- Tan, K. (1980a). Studies in the *Thymelaeaceae* II: a revision of the genus *Thymelaea*. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 38 (2): 189-246.
- Tan, K. (1980b). Studies in the *Thymelaeaceae* I: Germination, seedlings, fruits & seeds. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 38 (1): 149-164.
- Tan, K. (1982). Studies in the *Thymelaeaceae* III: the status of *Diarthron*, *Dendrostellera*, *Stelleropsis* and *Stellera*. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 40 (1): 213-221.
- Tarrio, R., F. Rodríguez-Trelles & F.J. Ayala (2000). Tree rooting with out-



- groups when they differ in their nucleotide composition from the ingroup: the *Drosophila sultans* and *willistoni* groups, a case study. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16: 344-349.
- Tébar, F.J. & L. Llorens (1992). Variations dans la phénologie de trois espèces des communautés xérochméphytiques de l'île de Majorque. *Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres botaniques* 139 (2): 161-174.
- Tébar, F.J. & L. Llorens (1993). Heterocarpy in *Thymelaea velutina* (Poiret ex Camb.) Endl.: a case of phenotypic adaptation to Mediterranean selective pressures. *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 295-300.
- Templeton, A.R. (1983). Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site maps with particular reference to the evolution of human and the apes. *Evolution* 37: 221-244.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.
- Thorne, J.L. & H. Kishino (1992). Freeing phylogenies from artifacts of alignment. *Molecular Biology and Evolution* 9: 1148-1162.
- Thorne, J.L., H. Kishino & J. Felsenstein (1992). Inching towards reality: an improved likelihood model of sequence evolution. *Journal of Molecular Evolution* 34: 3-16.
- Thorne, J.L., H. Kishino & J. Felsenstein (1991). An evolutionary model for maximum likelihood alignment of DNA sequences. *Journal of Molecular Evolution* 33: 114-124.
- Torrance, S.J., J.J. Hoffmann & J.R. Cole (1979). Wikstromol, anti-tumor lignan from *Wikstroemia foetida* var. *oahuensis* Gray and *Wikstroemia uva-ursi* Gray (Thymelaeaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences* 68 (5): 664-665.
- Tournefort, J.P. de (1700). *Institutiones Rei Herbariae*. 3 vol. Paris.
- Tournefort, J.P. de (1703). *Corollarium Institutionum Rei Herbariae*. Paris.
- Triat-Laval, H. (1978). *Contribution pollenanalytique à l'histoire tardi- & postglaciaire de la végétation de la basse vallée du Rhône*. Thèse Université Aix-Marseille III.
- Urbani, M. (1991). Nuove segnalazioni di *Thymelaea tartonraira* (L.) All. in Italia meridionale. *Informatore Botanico Italiano* 23 (1): 35-37.

- Van der Bank, M., M.F. Fay & M.W. Chase (2002). Molecular phylogenetics of *Thymelaeaceae* with particular reference to African and Australian genera. *Taxon* 51: 329-339.
- Van de Peer, Y., E. Robrecht, S. de Hoog, A. Caers, P. de Rijk & R. de Wachter (1999). Database on the structure of small subunit ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research* 27: 179-183.
- Van der Hammen, T., T.A. Wijstra & W.H. Zagwijn (1971). The floral record of the late Cenozoic of Europe. In: K.K. Turekian (ed.). *Late Cenozoic glacial ages*, pp. 390-424. Yale Univ. Press, New Haven.
- Van Ham, R.C.H.J., H. Hart, T.H.M. Mes & J.M. Sandbrink (1994). Molecular evolution of noncoding regions of the chloroplast genome in the *Crassulaceae* and related species. *Current Genetics* 25: 558-566.
- Venkatachala, B.S., C. Caratini, C. Tissot & R.K. Kar (1988). Palaeocene-Eocene marker pollen from India and tropical Africa. *Palaeobotanist* 37: 1-25.
- Venkateswarlu, J. (1945). Embryological studies in the *Thymelaeaceae* 1. *Thymelaea arvensis* Lamk. *Journal of the Indian Botanical Society* 24: 45-66.
- Venkateswarlu, J. (1947). Development of the embryo of *Thymelaea arvensis* Lamk. *Botanical Gazette* 108: 581-586.
- Waddell, P.J. & M.A. Steel (1997). General Time-reversible distances with unequal rates across sites: mixing gamma and inverse Gaussian distributions with invariant sites. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8 (3): 398-414.
- Walsh, H.E., M.G. Kidd, T. Moum & V.L. Friesen (1999). Polytomies and the power of phylogenetic inference. *Evolution* 53: 932-937.
- Webb, D.A. & I.K. Ferguson (1968). *Thymelaea* Miller. In: T.G. Tutin & al. (eds.). *Flora Europaea*, Vol. 2: 258-260. Cambridge.
- Wendel, J.F., A. Schnabel & T. Seelanan (1995a). An unusual ribosomal DNA sequence from *Gossypium gossypioides* reveals ancient, cryptic, intergenomic introgression. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4 (3): 298-313.
- Wendel, J.F., A. Schnabel & T. Seelanan (1995b). Bidirectional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 280-284.
- Wendel, J.F. & J.J. Doyle (1998). Phylogenetic incongruence: window

- into genome history and molecular evolution. In: D.E. Soltis, P.S. Soltis & J.J. Doyle (eds.). *Molecular systematics of plants, II. DNA sequencing*, pp. 265-296. Chapman & Hall, New York.
- Wheeler, W.C., J. Gatesy & R. Desalle (1995). Elision: a method for accomodating multiple molecular sequence alignments with alignment-ambiguous sites. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 1-9.
- Wheeler, W.C. (1996). Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics?. *Cladistics* 12: 1-9.
- Wheeler, W.C. (1999). Fixer character states and the optimization of molecular sequence data. *Cladistics* 15: 379-386.
- Wheeler, W.C. (2001). Homology and the optimization of DNA sequence data. *Cladistics* 17: 3-11.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee & J. Taylor (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis & al. (eds.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*, pp. 315-322. Academic Press.
- Wilkinson, M. (1991). Homoplasy and parsimony analysis. *Systematic Zoology* 40: 105-109.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18 (22): 6531-6535.
- Wojciechowski, M.F., M.J. Sanderson, B.G. Baldwin & M.J. Donoghue (1993). Monophyly of aneuploid *Astragalus* (*Fabaceae*): evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany* 80 (6): 711-722.
- Wu, C-I. & W-H. Li (1985). Evidence for higher rates of nucleotide substitution in rodents than in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 82: 1741-1745.
- Xiang, Q-Y., D.E. Soltis & P.S. Soltis (1998). Phylogenetic relationships of *Cornaceae* and close relatives inferred from matK and rbcL sequences. *American Journal of Botany* 85 (2): 285-297.
- Xu, Z.H., G.W. Qin & R..S. Xu (2001). A new bicoumarin from *Stellera chamaejasme* L. *Journal of Asian Natural Products Research* 3 (4): 335-340.
- Yang, Z. (1994). Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods.



- Journal of Molecular Evolution* 39: 306-314.
- Yang, Z., N. Goldman & A.E. Friday (1994). Comparison of models for nucleotide substitution used in maximum likelihood phylogenetic estimation. *Molecular Biology and Evolution* 11: 316-324.
- Yang, Z. (2000). *Phylogenetic analysis by maximum likelihood (PAML). Version 3.0*. University College of London, London.
- Yingzheng, W. (1999). Re-examination on the delimitation characters between *Wikstroemia* and *Daphne* (*Thymelaeaceae*) from China. *XVI International Botanical Congress, abstracts*. St. Louis, Missouri.
- Yoder, A.D., J.A. Irwin & B.A. Payseur (2001). Failure of the ILD to determine data combinability for slow loris phylogeny. *Systematic Biology* 50: 408-424.
- Zachariasse, J.W. (1983). Paleoenvironmental and paleoceanographic interpretation of Mediterranean Middle Miocene to Pleistocene planktonic associations. *Utrecht Micropaleontological Bulletins* 30: 91-110.
- Zuker, M. & D. Sankoff (1984). RNA secondary structures and their prediction. *Bulletin of Mathematical Biology* 46: 591-621.
- Zuker, M., D.H. Mathews & D.H. Turner (1999). Algorithms and thermodynamics for RNA secondary structure prediction: a practical guide. In: J. Barciszewski & B.F.C. Clark (eds.). *RNA biochemistry and biotechnology*, pp. 11-43. NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers.
- Zuker, M. (2000). Calculating nucleic acid secondary structure. *Current Opinion in Structural Biology* 10: 303-310.
- Zuckerandl, E. & L. Pauling (1965). Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of Theoretical Biology* 8: 357-366.